

**Analyse de l'impact de protéodites
sur le goût de tomates**

OLIVIER Frères
La Bonodière
44115 Haute-Goulaine

Rapport d'essais 2009
(août - novembre 2009)

Pedro FERRANDIZ
Michel DUHAMEL

9 février 2010

Sommaire

1. PRESENTATION	4
1.1. Contexte	4
1.2. Le procédé génodique	4
2. EXPERIMENTATIONS REALISEES	6
2.1. Caractérisation des expérimentations menées.....	6
2.1.1. Première partie de l'essai.....	6
2.1.2. Deuxième partie de l'essai.....	7
2.2. La diffusion des protéodies	7
2.2.1. La diffusion	7
2.2.2. Ensembles de protéodies diffusées	7
2.2.3. Plan des diffusions réalisées pour chaque essai	8
3. METHODES D'ANALYSE DES ECHANTILLONS.....	8
3.1. Dosage du glucose et du fructose : méthode enzymatique	8
3.2. Dosage de l'acide citrique : méthode enzymatique	8
3.3. Dosage de la vitamine C : méthode titrimétrique	9
4. PRESENTATION DES RESULTATS.....	10
4.1. Résultats intermédiaires (Essai 1).....	10
4.2. Résultats finaux.....	10
4.2.1. Résultats bruts.....	10
4.2.2. Courbes d'évolution du taux de sucres	11
5. CONCLUSIONS	12
5.1. Augmentation du taux de sucres.....	12
5.2. Diminution de l'acidité.....	12
5.3. Augmentation du taux de vitamine C.....	12
5.4. Nouvelles perspectives	13
5.4.1. Choisir une variété de tomates ayant un meilleur potentiel gustatif.....	13
5.4.2. Elargir le choix des protéodies	13
5.4.3. Tester de nouvelles applications.....	13

6. REFERENCES..... 13

7. ANNEXE : DONNEES ORIGINALES..... 14

Étude de l'application du procédé génodique pour l'amélioration du goût des fruits sur des cultures de tomates,

1. Présentation

1.1. Contexte

Monsieur Jean-Luc OLIVIER, du groupement « Océane », produit des fruits et légumes avec des techniques qui lui sont propres. Il est intéressé par le Procédé génodique. Afin d'en caractériser les effets, il a été proposé de tester l'impact de protéodies sur le goût, par un suivi de l'évolution du taux de sucre et de l'acidité.

Genodics développe et commercialise les applications du Procédé génodique, qui résulte de l'invention de M. Joël STERNHEIMER relative à la « régulation épigénétique de la biosynthèse des protéines par résonance d'échelle » (brevet européen EP0648275B1), dont Genodics a la licence exclusive d'exploitation. Genodics dispose de savoir-faire importants concernant l'application de ce procédé, notamment dans le domaine de l'agriculture. Ce procédé ne nécessite pas l'utilisation d'intrants. En stimulant des facteurs naturels du métabolisme de la plante, ce procédé permet d'éviter d'avoir recours à des manipulations génétiques de la plante, tout en respectant l'environnement.

Les tests ont eu lieu d'août à novembre 2009, au Domaine Olivier Frères, en Pays-de-Loire.

1.2. Le procédé génodique

Le procédé appliqué par Genodics est issu du brevet de Joël Sternheimer (référence 2) relatif à la régulation épigénétique de la biosynthèse des protéines. Il consiste à diffuser, au voisinage de la plante, des suites de fréquences sonores d'une durée de quelques minutes, ressemblant à des musiques et que nous appelons 'protéodies'.

Ces protéodies sont susceptibles d'agir sur les êtres vivants de manière plus précise, et par là plus puissante, que les musiques habituelles. Elles correspondent en effet à des informations biologiques très spécifiques : il s'agit de la transposition en sons audibles de phénomènes vibratoires qui se produisent naturellement dans la plante elle-même, lorsque celle-ci fabrique les composants qui permettent sa croissance et son équilibre (les protéines).

Du fait de cette correspondance, la diffusion d'une protéodie, spécifique de tel ou tel composant, va favoriser la production de ce composant par la plante et, par conséquent, la fonction biologique associée à ce composant. Et inversement, la diffusion d'une autre protéodie peut inhiber la synthèse de ce composant. Il est ainsi possible de stimuler ou, au contraire, d'inhiber des activités particulières de la plante : par exemple, augmenter l'activité de mécanismes de résistance naturelle de la plante à différentes perturbations de son environnement, ou réduire l'activité des agents responsables de maladies, comme les virus. Ces phénomènes sont statistiquement plus efficaces s'ils sont en accord avec le

« sujet », en l'occurrence ici chaque plant de tomates, ainsi qu'avec l'environnement qui l'entoure. Pour être pertinents, les mécanismes de « résonances » physiques sur lesquels ces phénomènes se fondent requièrent l'adhésion du sujet, aussi bien de la plante que de celui qui la cultive. Ce point, fondamental dans cette approche du vivant, est à la fois une garantie pour son bon usage, et une difficulté pour le choix des séquences à diffuser.

Cette méthode est déjà appliquée sur différentes cultures, comme par exemple la vigne, pour la prévention de l'ESCA (maladie cryptogamique), ou pour la prévention de virus de la mosaïque sur des courgettes. Plusieurs expériences d'augmentation du taux de sucre de tomates ont déjà été réalisées avec succès.

2. Expérimentations réalisées

2.1. Caractérisation des expérimentations menées

D'août à novembre 2009, un processus expérimental a été mis en place. Il a été suivi sur place par M. François Grégoire de l'ARELPAL, en coopération avec Pedro Ferrandiz, de Genodics.

Les expérimentations suivantes ont été menées :

2.1.1. Première partie de l'essai

Installation le 30 juillet 2009

Mise en place et programmation d'un appareil pour la diffusion dans une serre de tomates, chez Olivier Frères, d'une combinaison de protéodies pouvant permettre l'accroissement du taux de sucre :

- 2 fois une protéodie de métabolisme, et
- 2 fois deux protéodies de protéines impliquées dans la production de sucre
- Total environ 6 mn. Diffusion le soir à 22 h, volume 25.

Visite de Pedro Ferrandiz le 7 septembre. Commentaires :

« Sur le test tomate, chez Mr. Olivier, M. Grégoire nous a donné le détail des deux premières analyses : celles de la semaine 32 peuvent nous servir de point de référence : elles ont été faites quelques jours après le démarrage de la diffusion. Elles ne présentent pas de différence en sucre et en acide citrique.

Celles de la semaine 34, (+/- après 15 jours de diffusion), ne présentent pas de différence non plus en sucre : le fait que le sucre se développe dans le fruit jusqu'au stade de début de coloration en serait l'explication. Pour l'acide citrique, celui-ci a tendance à diminuer pendant la coloration, ce que nous semblons observer sur le groupe musical.

Les prélèvements faits la première semaine de septembre (+/- après 30 jours de diffusion), devraient montrer des différences sur le sucre, et plus encore ceux de la semaine 38 où les fruits auront bénéficié des diffusions pendant l'intégralité de leur développement (+/- 50 jours de la fleur à la cueillette).

Le 7 septembre, nous avons échantillonné avec M. Grégoire 5 rangs (les rangs 6, 16, 26, 36, 46), avec trois fruits pris respectivement du côté nord, du côté sud, et au centre du rang ; les jus des tomates d'un même rang ont été mélangés et trois mesures de degré Brix ont été effectuées. »

Ci après les données (le système de diffusion étant sur le rang 10) :

Rang	6	16	26	36	46
Mesure1	3,80	3,70	3,40	3,40	3,30
Mesure2	3,60	3,80	3,40	3,50	3,40
Mesure3	3,60	3,80	3,40	3,40	3,40
Moyenne	3,67	3,77	3,40	3,43	3,37

« On semble percevoir un gradient décroissant, plus on s'éloigne de la source de diffusion, néanmoins les valeurs mesurées sont particulièrement basses. »

Au vu de ces données Pedro Ferrandiz a proposé d'augmenter la fréquence de diffusion des protéodies, et d'en modifier aussi la durée.

2.1.2. Deuxième partie de l'essai

Envoi de nouvelles protéodies le 9 septembre, pour modification du programme tomates :

- 3 fois une protéine de métabolisme,
- plus 8 séquences de protéines impliquées dans la production de sucre
- Total environ 10 mn. Diffusion le soir à 22 h, volume 20.

Suivi par téléphone (et courriels) de l'évolution qualitative de la production.

2.2. La diffusion des protéodies

2.2.1. La diffusion

Pour ces expérimentations, nous avons installé un appareil de diffusion autonome et programmable. Alimenté par le secteur, il dispose d'un programmateur déclenchant les diffusions aux horaires souhaités. Il comprend en outre deux hauts parleurs orientés parallèlement à la longueur de la serre. Pour l'essai, l'emplacement et l'orientation du système de diffusion a été choisi de manière à couvrir la zone de test de la manière la plus homogène possible.

Dans les différents essais, le volume sonore a été réglé pour bien couvrir la zone test.

2.2.2. Ensembles de protéodies diffusées

Les séquences de protéodies diffusées ont été choisies pour stimuler des protéines spécifiques des plants de tomates :

- Stimulation de protéines des plants de tomates :
 - métabolisme général : Séquence « Met ».
 - Augmentation du taux de sucre: Séquence « Suc ».

À noter que ces séquences ont été recherchées par homologies avec celles d'autres plantes.

Pour chaque essai, le choix des séquences diffusées et leur fréquence de diffusion ont été adaptés en fonction de l'évolution des cultures.

2.2.3. Plan des diffusions réalisées pour chaque essai

Nous supposons que les diffusions ont été faites à volume constant, suivant les durées programmées sur les CD fournis.

3. Méthodes d'analyse des échantillons

Variété de tomate : Admiro

Pour chaque analyse, un échantillonnage de 1 Kg de tomate a été prélevé dans chacune des deux zones, aux mêmes niveaux de maturité, à la même hauteur de pied, et sur des travées ayant la même exposition.

3.1. Dosage du glucose et du fructose : méthode enzymatique

Principe de la méthode :

Broyage et homogénéisation des échantillons - Extraction dans l'eau puis filtration.

Après extraction, le D-Glucose et le D-Fructose sont phosphorylés par l'enzyme hexokinase (HK) et l'adénosine-5'-triphosphate (ATP) en D-glucose-6-phosphate (G-6-P) et en D-fructose-6-phosphate (F-6-P) avec formation simultanée d'adénosine-5'-diphosphate (ADP). En présence d'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6P-DH) le D-glucose-6-phosphate est oxydé par le nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate (NADP+) en D-gluconate-6-phosphate avec la formation du nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH).

La quantité de NADPH formée au cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de glucose. La formation de NADPH est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

A la fin de la réaction le F-6-P est transformé en G-6-P sous l'action de la phosphoglucose isomérase (PGI). Le G-6-P ainsi formé, réagit à son tour avec le NADP+ selon la réaction. La quantité de NADPH formée est mesurée à nouveau à 340 nm. Elle est proportionnelle à la quantité de fructose.

Incertitude associée : +/- Résultat * 0.03

soit, pour un résultat de 13.5 g/kg en glucose, un intervalle de confiance situé entre $(13.5 - 13.5 \cdot 0.03) = 13.1$ g/kg et $(13.5 + 13.5 \cdot 0.03) = 13.9$ g/kg

3.2. Dosage de l'acide citrique : méthode enzymatique

Principe de la méthode :

Broyage et homogénéisation des échantillons - Extraction dans l'eau puis filtration.

L'acide citrique est transformé en oxaloacetate et acétate au cours d'une réaction catalysée par une enzyme : la citrate-lyase. En présence de 2 autres enzymes, la malate deshydrogénase et de la lactate-déshydrogénase, l'oxaloacétate et son dérivé de décarboxylation, le pyruvate, sont réduits en L-malate et en L-lactate par le nicotinamide-adenine-dinucéotide réduit (NADH). La quantité de NADH oxydé en NAD⁺ sous l'action des 2 enzymes précédentes est proportionnelle à l'acide citrique présent. L'oxydation du NADH est mesurée par la diminution de son absorbance à 340 nm.

Incertitude associée : +/- Résultat * 0.03

soit, pour un résultat de 4.3 g/kg en acide citrique, un intervalle de confiance situé entre $(4.3 - 4.3 \cdot 0.03) = 4.2$ g/kg et $(4.3 + 4.3 \cdot 0.03) = 4.4$ g/kg

3.3. Dosage de la vitamine C : méthode titrimétrique

Principe de la méthode (ISO 6557/2) :

Extraction de l'acide ascorbique par une solution d'acide métaphosphorique et d'acide acétique. Titration à l'aide d'une solution de dichloro-2,6 phénol indophénol jusqu'à obtention d'une coloration rose saumon.

Incertitude associée : +/- Résultat * 0.04

soit, pour un résultat de 119 mg/kg en vitamine C, un intervalle de confiance situé entre $(119 - 119 \cdot 0.04) = 114$ mg/kg et $(119 + 119 \cdot 0.04) = 124$ mg/kg

4. Présentation des résultats

4.1. Résultats intermédiaires (Essai 1)

L'acide citrique est systématiquement plus bas pour l'échantillon musical, dès la 2e semaine, sauf sur le prélèvement de la semaine 44 (??). Selon M. Grégoire, les tomates musicales prélevées cette semaine là semblaient plus mures que les non musicales. Elles auraient donc du être moins acides et plus sucrées. Ceci fait penser à une inversion des lots, cette semaine là, si les conditions expérimentales sont restées les mêmes (?).

Les taux de sucre sont peu différents, jusqu'en semaine 42 où l'on constate une forte progression. On pouvait s'attendre à avoir un impact cette semaine là, en raison de la diffusion de la nouvelle séquence 5 semaines avant. Cette progression s'inverse en semaine 44, puis repart à la hausse en semaine 46, pour les deux lots. Comment l'expliquer ?

Le taux de vitamine C de l'échantillon musical était inférieur au témoin jusqu'en semaine 42, à partir de laquelle il augmente fortement (avec tout de même un soubresaut en semaine 44).

4.2. Résultats finaux

4.2.1. Résultats bruts

ESSAI SUR TOMATES

TEMOIN NON TRAITE
(rang 45, côté bas)

	Glucose g/kg	Fructose g/kg	Total sucres g/kg	Acide citrique g/kg	Sucres / Acide Indice	Vitamine C mg/kg
SEM 32	14,2	14,8	29	4,5	6,44	107
SEM 34	13,5	13,8	27,3	4,7	5,81	119
SEM 36	12,7	13,3	26	4,1	6,34	88
SEM 38	13,5	14	27,5	4,3	6,40	90
SEM 40	13,1	13,9	27	4,9	5,51	93
SEM 42	12,5	12,7	25,2	4,6	5,48	92
SEM 44	14,3	15,4	29,7	5,5	5,40	109
SEM 46	17,0	18,0	35	4,4	7,95	90

ZONE TRAITEE
(rang 8, côté bas)

	Glucose g/kg	Fructose g/kg	Total sucres g/kg	Acide citrique g/kg	Sucres / Acide Indice	Vitamine C mg/kg
SEM 32	14,7	14,9	29,6	4,5	6,58	96
SEM 34	13,3	13,6	26,9	3,8	7,08	100
SEM 36	13,2	13,7	26,9	4	6,73	79
SEM 38	13,3	13,8	27,1	4,1	6,61	90
SEM 40	13,2	13,9	27,1	4,4	6,16	81
SEM 42	15,8	16,3	32,1	4,1	7,83	128
SEM 44	15,9	16,3	32,2	4,5	7,16	129
SEM 46	16,8	18,7	35,5	4,0	8,88	144

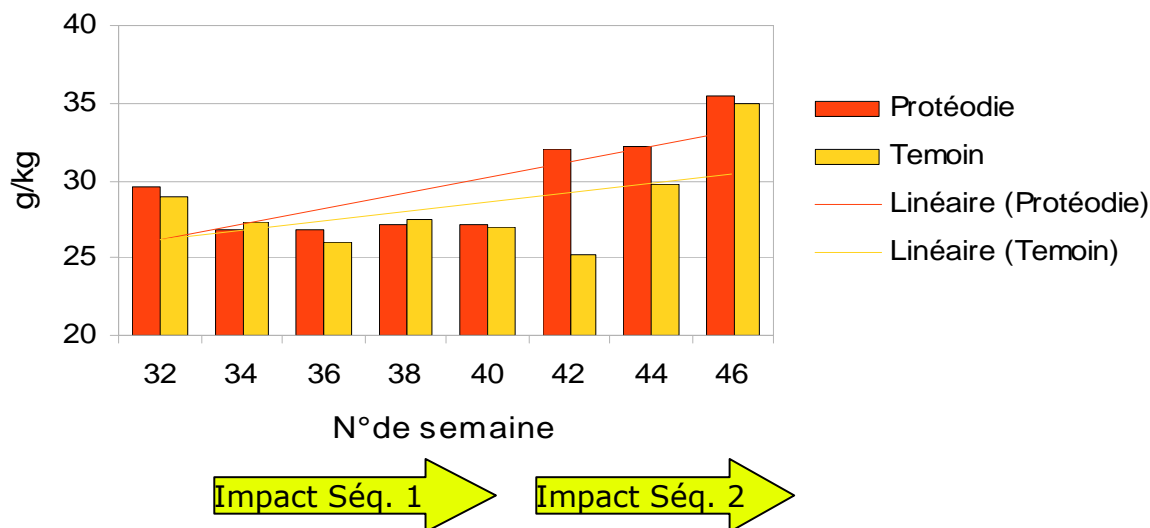
Remarque : pour la semaine 44, nous avons inversé les données relatives à la zone traitée et à la zone non traitée, parce que cela donne une meilleure continuité des mesures. Cette inversion des données est plausible quand on sait que l'indication de l'origine des lots récoltés était faite par un simple papier posé sur chaque caisse de fruits. Les données originales sont fournies en annexe.

ECART ZONE TRAITEE / ZONE NON TRAITEE

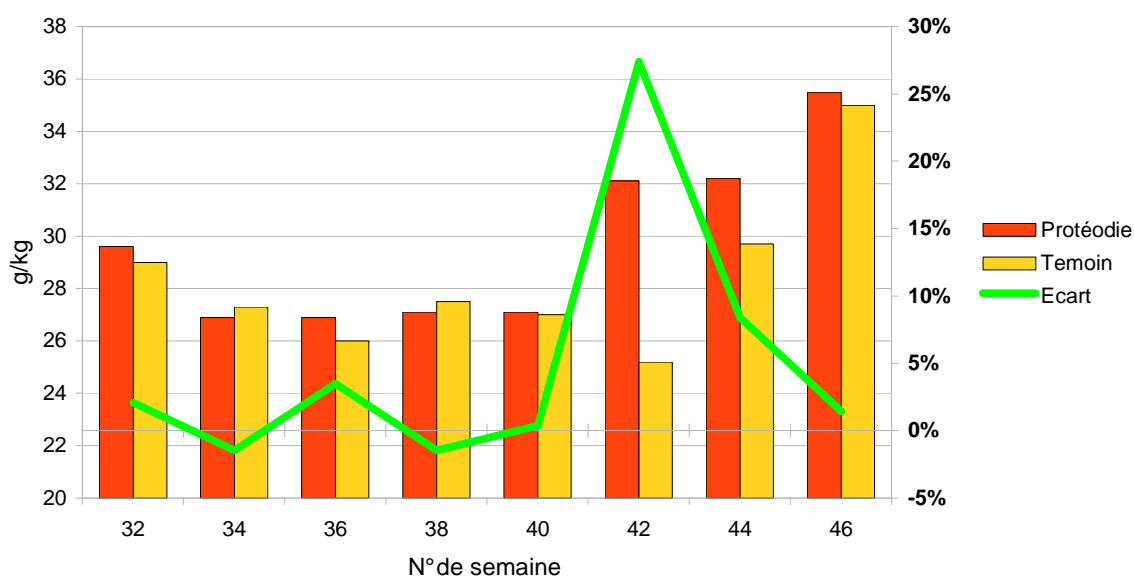
	Glucose	Fructose	Sucres %	Acide citrique %	Sucres / Acide %	Vitamine C %
	%	%				
SEM 32	3,52%	0,68%	2,07%	0,00%	2,07%	-10,28%
SEM 34	-1,48%	-1,45%	-1,47%	-19,15%	21,87%	-15,97%
SEM 36	3,94%	3,01%	3,46%	-2,44%	6,05%	-10,23%
SEM 38	-1,48%	-1,43%	-1,45%	-4,65%	3,35%	0,00%
SEM 40	0,76%	0,00%	0,37%	-10,20%	11,78%	-12,90%
SEM 42	26,40%	28,35%	27,38%	-10,87%	42,92%	39,13%
SEM 44	11,19%	5,84%	8,42%	-18,18%	32,51%	18,35%
SEM 46	-1,18%	3,89%	1,43%	-9,09%	11,57%	60,00%

4.2.2. Courbes d'évolution du taux de sucres

Variations Sucres Glu+Fru (g/kg)



Ecart Sucres Glu+Fru (g/kg)



5. Conclusions

5.1. Augmentation du taux de sucres

L'analyse des écarts entre la zone traitée avec une sélection de protéodies et la zone non traitée montre une différence significative à partir de la semaine 42 (+27,38%), c'est-à-dire à partir de la récolte influencée par la seconde sélection de protéodies. Cette différence se réduit cependant dans les semaines qui suivent, pour atteindre un niveau peu significatif en semaine 44 (+1,43%). Cette forte variation de la différence constatée nous laisse perplexes : il est possible que des différences de pratiques des ouvriers qui cultivaient les deux zones soient aussi en cause (ce n'étaient pas les mêmes, et l'effeuillage n'a peut-être pas été fait les mêmes jours sur les deux zones).

5.2. Diminution de l'acidité

Le taux d'acide citrique de l'échantillon traité a baissé de 19% par rapport à l'échantillon témoin, dès la deuxième semaine de traitement, et a ensuite oscillé autour de - 9% (valeur finale). Ce résultat est intéressant car il contribue à améliorer le rapport sucre/acide, généralement apprécié par les dégustateurs.

5.3. Augmentation du taux de vitamine C

Après avoir baissé de 10 à 15% dans les premières semaines, le taux de vitamine C dans l'échantillon traité est fortement remonté en semaine 42 (+39% par rapport à l'échantillon témoin), pour atteindre +60% en semaine 44. Là aussi, les fortes oscillations nous laissent perplexes, mais il apparaît clairement que la deuxième séquence de protéodies a permis une forte augmentation du taux de vitamine C (+ 39%, en moyenne sur les 3 dernières semaines du test).

5.4. Nouvelles perspectives

5.4.1. Choisir une variété de tomates ayant un meilleur potentiel gustatif

La variété Admiro, ici traitée par des protéodies, est réputée pour son excellente productivité et pour sa bonne résistance aux manutentions mais, même dans des conditions de culture idéales, elle n'est pas réputée pour le goût de ses fruits. Les protéodies ne peuvent pas lui faire donner plus que ce qu'elle est capable de produire au mieux de l'utilisation de son génome.

Pour obtenir des tomates plus parfumées, répondant mieux aux souhaits des consommateurs, il serait préférable de tester quelques variétés disposant d'un meilleur potentiel gustatif, et de rechercher les protéodies susceptibles d'améliorer leur productivité et leur fermeté.

5.4.2. Elargir le choix des protéodies

Selon les facteurs à développer dans les fruits et le degré de connaissance que les biologistes peuvent en avoir, la stimulation de nouvelles protéines pourra être envisagée, et les protéodies correspondantes préparées et testées.

5.4.3. Tester de nouvelles applications

Les responsables de la société Olivier Frères sont intéressés par un nouveau test : l'amélioration de la résistance de tomates à la chaleur, sur la même variété (Admiro), dans la serre n° 6. Cette serre est sujette au Botrytis Cynerea, dont la croissance va de pair avec celle de la végétation de la plante (il apparaît en mars et atteint son maximum en mai). Ce test, qui pourrait commencer dès le mois de février 2010, devra donc être suivi de près. Genodics va rechercher les combinaisons de protéodies pouvant avoir le meilleur impact sur cette problématique.

6. Références

Référence 1 : J. Sternheimer, « Method for epigenetic regulation of protein biosynthesis by scale resonance », patent n°FR9206765(1992).

Référence 2 : J. Sternheimer, « Dialoguer avec le vivant », Revue Alliance, N°3, mars-avril 05

7. Annexe : données originales

(avec soupçon d'inversion des données relatives à la semaine 44)

ESSAI SUR TOMATES

TEMOIN NON TRAITE

(rang 45, côté bas)

	Glucose	Fructose	Total sucres	Acide citrique	Sucres / Acide	Vitamine C
	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	Indice	mg/kg
SEM 32	14,2	14,8	29	4,5	6,44	107
SEM 34	13,5	13,8	27,3	4,7	5,81	119
SEM 36	12,7	13,3	26	4,1	6,34	88
SEM 38	13,5	14	27,5	4,3	6,40	90
SEM 40	13,1	13,9	27	4,9	5,51	93
SEM 42	12,5	12,7	25,2	4,6	5,48	92
SEM 44	15,9	16,3	32,2	4,5	7,16	129
SEM 46	17,0	18,0	35	4,4	7,95	90

ZONE TRAITEE

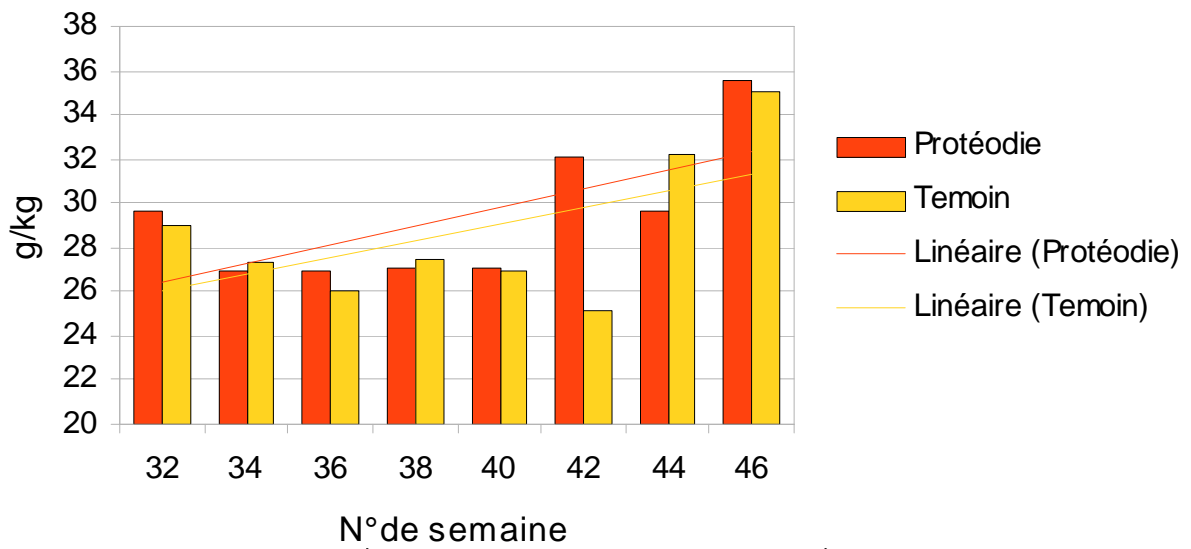
(rang 8, côté bas)

	Glucose	Fructose	Total sucres	Acide citrique	Sucres / Acide	Vitamine C
	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	Indice	mg/kg
SEM 32	14,7	14,9	29,6	4,5	6,58	96
SEM 34	13,3	13,6	26,9	3,8	7,08	100
SEM 36	13,2	13,7	26,9	4	6,73	79
SEM 38	13,3	13,8	27,1	4,1	6,61	90
SEM 40	13,2	13,9	27,1	4,4	6,16	81
SEM 42	15,8	16,3	32,1	4,1	7,83	128
SEM 44	14,3	15,4	29,7	5,5	5,40	109
SEM 46	16,8	18,7	35,5	4,0	8,88	144

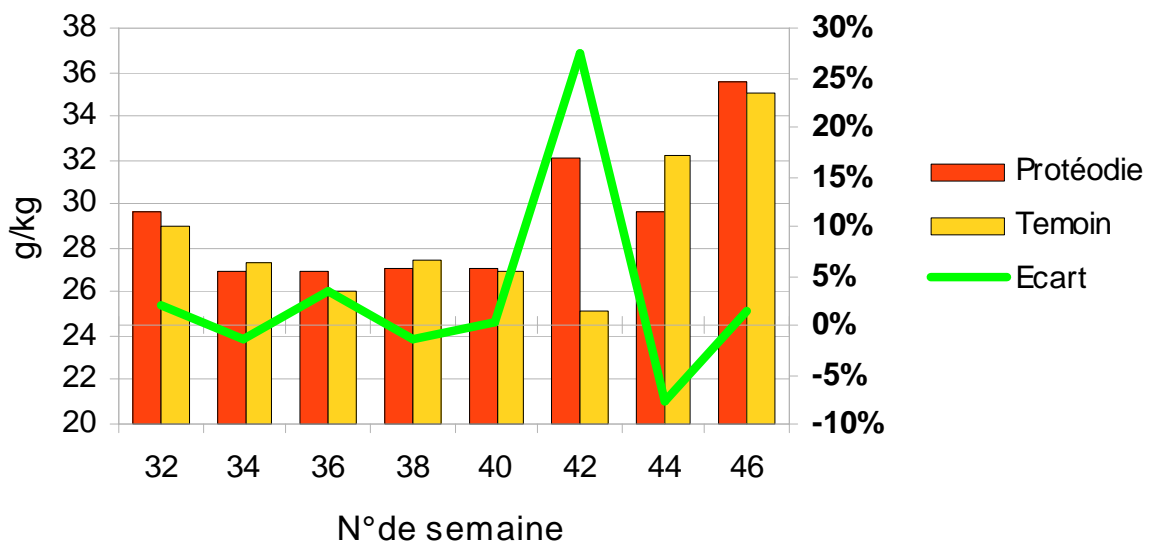
ECART ZONE TRAITEE / ZONE NON TRAITEE

	Glucose	Fructose	Sucres	Acide Citrique	Sucres / Acide	Vitamine C
	%	%	%	%	%	%
SEM 32	3,52%	0,68%	2,07%	0,00%	2,07%	-10,28%
SEM 34	-1,48%	-1,45%	-1,47%	-19,15%	21,87%	-15,97%
SEM 36	3,94%	3,01%	3,46%	-2,44%	6,05%	-10,23%
SEM 38	-1,48%	-1,43%	-1,45%	-4,65%	3,35%	0,00%
SEM 40	0,76%	0,00%	0,37%	-10,20%	11,78%	-12,90%
SEM 42	26,40%	28,35%	27,38%	-10,87%	42,92%	39,13%
SEM 44	-10,06%	-5,52%	-7,76%	22,22%	-24,53%	-15,50%
SEM 46	-1,18%	3,89%	1,43%	-9,09%	11,57%	60,00%

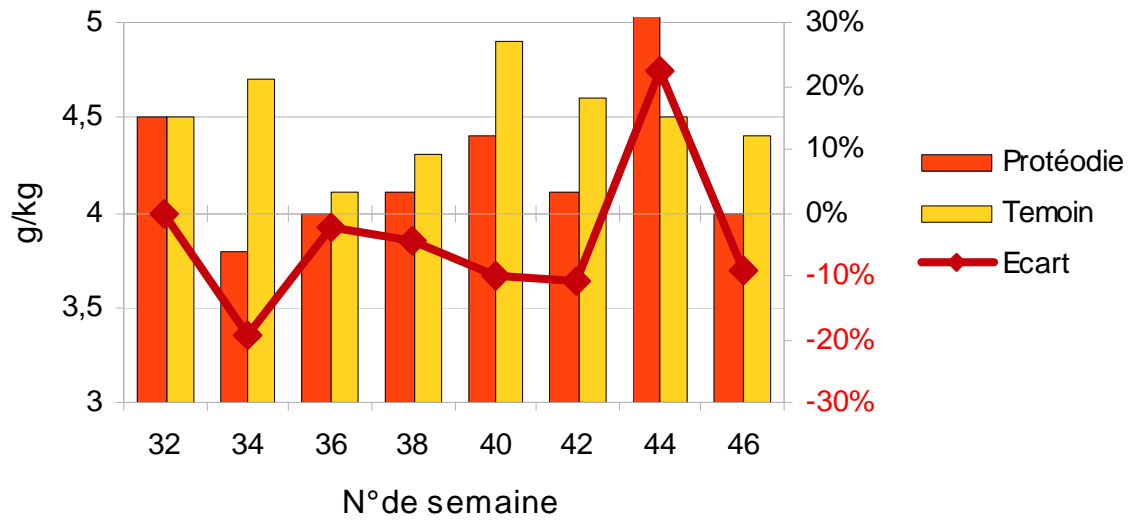
Sucres Glu+Fru (g/kg)



Sucres Glu+Fru (g/kg)



Acide citrique (g/kg)



Acide citrique (g/kg)

