

République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche Scientifique  
Université Cheikh Larbi Tébessi—Tébessa  
Institut des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie

## **MEMOIRE**

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en biologie

**Option : Biotechnologie végétale**

Thème

# **Identification et évaluation des ressources du genre *Pisum* par les marqueurs biochimiques**

Présenté par:

Mr FATMI HINDEL

Soutenu le : 2009

Devant le jury :

**Président : B. DJABRI**

**Rapporteur : D.KHELIFI**

**Examineur : R.MERGHEM**

**Examineur : A .HAMIDCHI**

**Invité : D.BOULKHELOUA**

**Maître de conférences université de Tébessa**

**Professeur université de Constantine**

**Professeur université de Constantine**

**Maitre de conférences université de Constantine**

**Chargé de cours université de Tébessa**

# *Remerciements*

Après avoir remercié le tout puissant, je tiens à remercier :

Mon promoteur, Mr D.KHELIFI, professeur à l'université de Constantine et responsable du laboratoire de recherche biochimie génétique, pour son accueil dans le laboratoire et sa prise en charge dans la réalisation de ce travail, pour ses conseils, sa patience, et sa disponibilité et l'intérêt qu'il a manifesté pour l'aboutissement de ce travail.

Mr D.BOULKHELOUA, chargé de cours à l'université de Tébessa, pour m'avoir orienté, et de m'avoir bénéficié de son savoir et de ses conseils éclairés.

Mr B.DJABRI, maître de conférences à l'université de Tébessa pour l'honneur qu'il m'a fait, en acceptant de présider le jury.

Mr R.MERGHEM, professeur à l'université de Constantine, ainsi que Mr A.HAMIDCHI, maître de conférences à l'université de Constantine pour avoir aimablement accepté d'examiner ce travail.

Tous mes enseignants de la première année de post-graduation.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

# Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

## Chapitre 1: étude bibliographique

1-Cultures fourragères en Algérie.....	4
1.1-Place des cultures fourragères en Algérie.....	4
1.2-Objectifs de la production fourragère en Algérie.....	4
1.3-Amélioration de la production fourragère en Algérie.....	4
1.4-Situation alimentaire en Algérie.....	4
2-pois au Maghreb.....	6
3-Pois dans l'union européenne.....	6
4-Présentation de l'espèce.....	7
4.1-Appareil végétatif.....	7
4.2-Appareil reproducteur.....	8
5-Écologie.....	10
5.1-Températures.....	10
5.2-Pluviométrie.....	10
5.3-Photopériodisme.....	10
5.4-Sols.....	10
6-Classification.....	10
6.1-Place dans la systématique.....	11
7-Intérêt de la culture de pois.....	12
7.1-Intérêt agronomique.....	12
7.2-Intérêt alimentaires.....	13
7.3-Intérêt économique.....	14
7.4-Autres utilisations.....	14
8-Origine et histoire.....	15
9-Nutrition azotée.....	16
10-Composition biochimique et valeur nutritionnelle.....	17
11-Les protéines de la graine de pois : un ensemble complexe.....	20
11.1-composition des protéines de pois.....	20
11.2-Structure des principales protéines de pois.....	21
11.2-1-Légumine (11S).....	21
11.2-2-Vicilines et convicilines (7S).....	23
11.2-3-Albumines (2S).....	23
-L'albumine PA1.....	24
-L'albumine PA2.....	24
-Molécules biologiquement actives.....	26
1-Les lipoxygénases.....	26
2-Les lectines.....	26
3-Les inhibiteurs de protéases.....	26
12-Synthèse et transport des protéines dans la graine.....	27
13-Mobilisation des protéines de réserve lors de la germination.....	27
14-Marquage moléculaire et amélioration des plantes.....	28
14.1-Marqueurs biochimiques.....	29
14.2-Intérêt des marqueurs biochimiques.....	29

15-Utilisation des marqueurs en amélioration des plantes.....	29
---	----

## *Chapitre 2: Matériel et méthodes*

1-Matériel végétal.....	32
2-Méthode d'étude.....	32
2.1-Préparation des échantillons.....	32
2.2-Extraction des protéines totales.....	32
2.3-Extraction des protéines alcool-solubles.....	35
2.4-Extraction des protéines solubles.....	35
3-Technique d'électrophorèse.....	35
3.1-Principe de l'électrophorèse.....	35
3.2-Préparation des gels.....	36
3.2-1-Le gel de séparation (running gel) à Ph 8,8.....	36
3.2-2-Le gel de concentration (stacking gel) à pH 6,8.....	36
3.3-Tampon d'électrophorèse.....	36
3.4-Conditions de migration.....	36
3.5-Fixation, coloration et décoloration.....	37
3.6-Lecture des diagrammes.....	37
4-Extraction des isoenzymes.....	37
4.1-Préparation des tampons bac et gel.....	37
4.2-La migration.....	38
4.3-Révélation des enzymes.....	38
5-Interprétation des diagrammes.....	38
6-Etude Statistique.....	38

## *Chapitre 3: Résultats et discussion*

1-Etude de la diversité des protéines.....	40
1.1-Les protéines totales.....	40
1.1-1-Choix de la région de lecture.....	42
1.2-Les protéines alcool-solubles.....	43
1.3-Les protéines solubles.....	44
2-Etablissement du diagramme type variétal.....	45
3-Diagrammes observés chez les variétés étudiées.....	50
4-Calcul de l'indice de similarité (IRS).....	50
5-Exploitation des résultats.....	54
5.1-Dendrogrammes de dissimilarité.....	54
5.1-1-Protéines totales.....	54
5.1-2-Protéines alcool-solubles.....	55
5.1-3-Protéines solubles.....	55
6-Polymorphisme isoenzymatique.....	58
6.1-Interprétation génétique des zymmogrammes.....	58
6.2-Variabilité isoenzymatique parmi les échantillons de pois.....	58
6.3-Description des zymmogrammes.....	58
1-Got.....	58
2-Estérase.....	62
6.4-Calcul des indices de similarité.....	64
6.5-Construction des dendrogrammes.....	66
Conclusion.....	68
Références bibliographiques.....	70

Annexes

Résumés

## ***Abréviations***

**ADN:** Acide DésoxyriboNucléique.

**ADNc :** Acide désoxyribonucléique complémentaire.

**AEP :** Association européenne des protéagineux.

**APS:** Ammonium persulfate.

**DTT :** Dithiothreitol.

**EST:** Estérase.

**FAO:** Food and Agriculture Organization.

**G:** Glutamate oxaloacétate transaminase.

**GEVES:** Groupe D'étude et de contrôle des Variétés Et des Semences.

**GOT:** Glutamate oxaloacétate transaminase.

**HMW :** High molecular weight

**IAS:** Indice absolu de similarité.

**INRA :** Institut National de la recherche agronomique.

**IRS:** Indice relatif de similarité.

**IT :** Inhibiteurs trypsiques.

**ITGC :** Institut Technique des Grandes Cultures.

**KDa:** Kilo Dalton.

**Kcal:** kilo calorie.

**Mbp :** Mobilité, mesurée au mm près, d'une bande particulière.

**Mbr :** Mobilité, mesurée au mm près, de la bande de référence.

**Mr:** Mobilité relative.

**Pb:** paire de bases.

**P h:** pression d'hydrogène.

**P/V :** Poids sur volume.

**QTL :** Quantitative trait loci.

**RAPD:** Random Amplification of Polymorphic DNA.

**RFLP:** Restriction fragment length polymorphism.

**SAM:** Sélection assistée par marqueurs.

**SDS-PAGE:** Sodium Dodécyl Sulfate PolyAcrylamide-Gel-Electrophoresis.

**TCA :** Acide trichloracétique.

**TEMED :** Tetraméthyl-éthylène diamine.

## **Introduction**

L'homme a toujours cherché, de façon empirique et bien avant de connaître les lois de l'hérédité, à domestiquer et améliorer les végétaux qu'il consommait en sélectionnant les plantes les mieux adaptées à ses besoins.

La diversité génétique des espèces végétales a été générée au fil du temps sous la pression combinée de la nature, puis de l'homme depuis les débuts de la domestication. La conservation de la diversité génétique passe inévitablement par son évaluation et par la recherche d'outils susceptibles de la traduire le plus fidèlement possible. Parmi ceux-ci, les marqueurs moléculaires sont devenus les indicateurs de variabilité les plus utilisés depuis une vingtaine d'années

Riche en protéines, le pois est une matière première particulièrement intéressante pour l'alimentation humaine et des animaux monogastriques. Dans la graine de pois, la principale fonction des protéines est de servir de réserve d'azote et d'acides aminés, cette fonction engendre, pour ces protéines, certaines caractéristiques, telles qu'une structure particulièrement compacte.

L'identification des cultivars est un processus important pour tout programme d'amélioration génétique. Presque la totalité des collections est évaluée au champ à l'aide des caractères phénotypiques (morphologiques, biométriques, agronomiques) soumis à la sélection.

Cependant, les variétés de pois sont nombreuses et la collecte des résultats est souvent très couteuse, les critères morpho-physiologiques des espèces végétales ne suffisent plus pour la caractérisation et l'identification variétale. C'est la raison pour laquelle afin de consolider l'examen morphologique, des techniques biochimiques sont utilisées.

Les marqueurs biochimiques représentés par les protéines et les isoenzymes sont utilisés comme marqueurs génétiques.

En effet, dans les années soixante dix, les chercheurs ont commencé à mettre au point une technologie d'identification génétique de la protéine pour reconnaître entre elles des variétés qui ne seraient pas identifiables à l'œil nu.

Ce travail concerne l'identification et l'évaluation de la diversité génétique d'une collection du genre *Pisum*.

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'analyse du polymorphisme protéique et isoenzymatique, d'une part pour mieux estimer la variabilité génétique intra et interspécifique, et d'autre part pour rechercher des marqueurs enzymatiques pouvant être caractéristiques de l'espèce.

Pour ces analyses nous avons utilisé la technique d'électrophorèse mono dimensionnelle sur gel de polyacrylamide en présence de Sodium Dodécyl Sulfate (SDS-PAGE). En effet cette technique est de plus en plus utilisée pour identifier des variétés, contrôler des semences et élucider certains problèmes taxonomiques en se basant sur le polymorphisme enzymatique (Trifi et *al*, 1983).

Les travaux effectués ont été conduits au laboratoire de biochimie génétique et biotechnologie végétale de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Mentouri de Constantine.

Cette étude a pour objectif de fractionner chez 13 variétés de pois les protéines totales, alcool-solubles et solubles ainsi que les estérases et la glutamate oxaloacetate transaminase et d'évaluer leur variabilité au sein des variétés.

Les données bibliographiques sont présentées dans le premier chapitre de ce mémoire, avec une présentation générale du pois, sa production, son utilisation, ces caractéristiques botaniques, génétiques et physiologiques ainsi que son utilisation et ces intérêts, tout en mettant l'accent sur l'utilisation du polymorphisme des protéines et des isoenzymes comme empreinte génétique et son apport dans l'identification variétale.

La deuxième partie de ce mémoire décrit dans son premier chapitre le matériel végétal étudié, et les techniques biochimiques utilisées.

Le deuxième chapitre donne les résultats expérimentaux obtenus, leur description, exploitation, et discussions.

Une conclusion générale et quelques perspectives sont enfin données.

*REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE*



## **1- Culture fourragères en Algérie**

### **1.1-Place des cultures fourragères en Algérie**

D'après Lemnouar-Haddadi (2000) sur une surface agricole utilisable de 7.5 millions d'hectares, l'aire fourragère cultivée au pays ne représente que 6% (Figure 1). Elle est passée de 530.000 hectares en 1992 à 400.000 hectares en l'an 2000 (Figure 2). Cette régression est due au manque et à la cherté de la semence importée, ainsi qu'à l'augmentation des charges liées surtout à la récolte (défaut de matériel).

Les zones de productions fourragères en Algérie, correspondent souvent aux zones d'élevages (bovins, ovin et caprin) ; cette production fourragère est un moyen sûr pour développer cette autre activité agricole qu'est l'élevage (Kara, 2003)

D'après Boulberhane (1996) la surface fourragère cultivée est variable selon les wilayas : elle est supérieure à 70% Oum El Bouaghi, Khenchela, Batna et Tébessa, inférieure à 50 % à Sétif, Constantine et presque à 30 % à Mila par rapport à la surface fourragère totale. Ainsi, les principales zones de production des fourrages naturels (jachères et prairies) sont actuellement la Kabylie, les Aurès, le nord-est des hauts plateaux sétifiens (Mila) et l'extrême nord est (Souk-Ahras).

### **1.2-Objectifs de la production fourragère en Algérie**

Le premier objectif de la production fourragère en Algérie reste la satisfaction du cheptel en énergie et en matières azotées. Les autres objectifs des cultures fourragères sont liés à leur valeur agronomique comme précédent cultural (Hamadache, 2001).

### **1.3-Amélioration de la production fourragère en Algérie**

D'après Kheldoun et al. (2000) le développement des cultures fourragères en Algérie débute par l'identification (définition) des espèces les plus productives, les plus précoces et les mieux adaptées aux différentes zones agro-écologiques, puis par leur intégration dans des assolements-rotations.

### **1.4-Situation alimentaire en Algérie**

Le potentiel fourrager existant en Algérie est structuré autour de quatre ensembles, d'inégale importance, constitués par les prairies naturelles, les parcours steppiques, les fourrages cultivés et les parcours forestiers

D'après Abdelguerfi (1987) les fourrages verts, plus nutritifs et plus énergétiques, ne sont pas cultivés et n'entrent que pour une très faible part dans l'alimentation du cheptel, ce qui a pour effet une diminution de la production laitière et une production de viande aléatoire.

Lemnouar-Haddadi (2000) signale que toutes les espèces fourragères cultivées en Algérie sont d'origine étrangère. En général, les rendements car ces semences ont été sélectionnées pour des conditions édapho-climatiques particulières et nécessitent souvent des techniques culturales et un suivi poussé.

Les légumineuses fourragères possèdent une bonne productivité en condition sèche ; leur intégration dans la rotation est considérée comme l'approche la plus efficace, sur le plan quantitatif et qualitatif, pour résoudre le problème de l'alimentation animale en Algérie.



## **2-Pois au Maghreb**

Selon les statistiques de l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), en 1997, la production de pois en Algérie était de 87 500 tonnes pour une surface cultivée de 25 000 hectares ce qui la place derrière l'Égypte et le Maroc au niveau africain. Le Maroc vient en deuxième place, sa production est de 110 000 tonnes pour une surface cultivée de 18 000 hectares

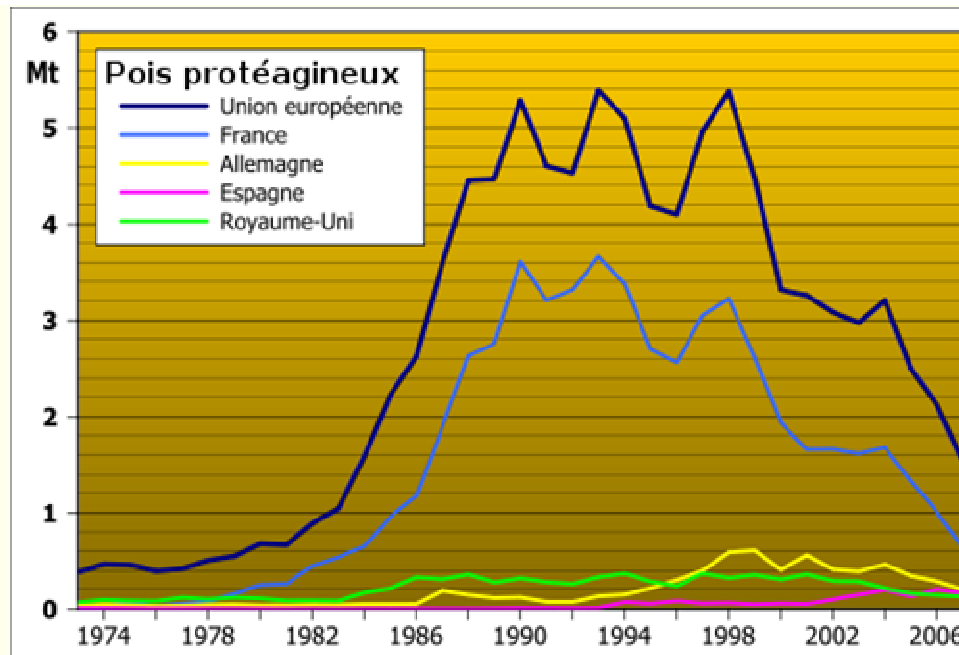
La sélection des plantes fourragères au Maroc est relativement récente par rapport à d'autres cultures telles que les cultures horticoles et les céréales. L'amélioration génétique et le choix de variétés adaptées des espèces du pois fourrager ont été réalisés selon l'importation du matériel génétique présélectionné à l'étranger et soumis à une sélection par des essais multilocaux et pluriannuels (Al faiz et Jaritz, 1997).

Au Maroc le pois fourrager est considéré comme une espèce d'intérêt économique et stratégique pour laquelle l'effort de sélection doit être constamment appuyé. Il est essentiellement utilisé en mélange avec l'orge pour la production de fourrage vert ou de foin. Cependant, ses rendements en fourrage et en graines sont instables dans les zones semi-arides (Benbrahim, 2008).

## **3-Pois dans l'union européenne**

L'Union européenne est le deuxième producteur mondial de pois, derrière le Canada, mais reste importatrice nette. Les pois protéagineux (pois secs) sont très majoritairement destinés à l'alimentation animale. Ainsi au cours de l'exercice 2005/2006, sur une consommation totale de 3,85 millions de tonnes, 3,33 Mt (86,5 %) ont été incorporés dans les aliments composés pour animaux, tandis que l'alimentation humaine, les semences et l'export représentaient respectivement 5,2 %, 4,5 % et 3,7 %. La production communautaire avait fourni pour ce même exercice 2,44 Mt, soit un taux d'autosuffisance de 63,2 %. La France est de loin le premier producteur (avec 48,6 % du total) devant l'Allemagne, l'Espagne et le Royaume-Uni.

Le développement du pois (des plantes protéagineuses en général) et de son utilisation en alimentation animale a nécessité un important effort de recherche fondamentale et appliquée, tant sur le plan de la génétique que de ses applications agronomiques et zootechniques, mobilisant de nombreux organismes, comme l'INRA en France ou le John Innes Centre au Royaume-Uni. Ces recherches sont coordonnées au niveau européen par l'association européenne des protéagineux (AEP).



**FIGURE 3 : Evolution de la production de pois protéagineux dans l'Union européenne de 1973 à 2007**

Source FAOSTAT

#### 4-Présentation de l'espèce

Le pois (*Pisum sativum L.*) est une espèce de plante annuelle autogame de la famille des légumineuses (Fabacées), largement cultivée pour ses graines, consommées comme légume, ou utilisées comme aliment du bétail. Le terme désigne aussi la graine elle-même, riche en énergie (amidon) et en protéines (de 16 à 40 %). Les pois secs se présentent souvent sous la forme de « pois cassés ». Les pois frais sont plus couramment appelés « petits pois ».

Son génome comprend sept paires de chromosomes ( $2n=14$ ). Sa taille est estimée à 4500 Mpb, dont 90 % sont constitués de séquences répétées de type rétrotransposons (Guéguen, 1995).

##### 4.1-Appareil végétatif

Le système racinaire est de type pivotant, pouvant atteindre une profondeur d'un mètre dans des conditions de sol favorables, mais cependant très ramifié, surtout dans la couche superficielle du sol. Les radicelles de 2<sup>e</sup> ou 3<sup>e</sup> ordre portent des nodosités, siège de la fixation symbiotique de l'azote. La bactérie concernée, qui est également présente sur les genres *Lathyrus* et *Lens*, *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* (Chaux et Foury, 1994 ; Hopkins, 2003).

La tige, peu ramifiée, de longueur variant de 50 cm à 1,5 m, voire jusqu'à deux mètres, est à croissance indéterminée. Elle est creuse, de section cylindrique, et grimpe en s'accrochant aux supports par les vrilles des feuilles. Elle se caractérise par un certain nombre de nœuds, ou mailles, dont les premiers sont purement végétatifs (émettant des feuilles ou des ramifications) et les suivants reproducteurs (portant des fleurs). Chez les variétés les plus

précoces, les premières fleurs apparaissent dès le quatrième nœud, tandis que chez les plus tardives elles peuvent n'apparaître qu'au 25<sup>e</sup> (Smart, 1990)

Les feuilles, alternes, sont composées d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée. Celles-ci sont entières, et ont de 1,5 à 6 cm de longueur. Chez certaines variétés, les folioles sont partiellement transformées en vrilles. Chez les variétés de type 'afila', toutes les folioles sont remplacées par des vrilles, les fonctions foliaires (photosynthèse) étant alors assurées par les stipules. Inversement chez les variétés de type 'accacia', les vrilles sont transformées en folioles.

Les feuilles possèdent à leur base de deux grandes stipules embrassantes, arrondies et crénelées à la base. Souvent plus grandes que les folioles, elles peuvent atteindre 10 cm de long. Certaines variétés ont des stipules allongées caractéristiques dites « en oreilles de lapin ». Les stipules portent parfois des taches rouges (présence d'anthocyane), caractéristiques de certaines variétés, notamment chez les pois fourragers.

#### **4.2-Appareil reproducteur**

Les fleurs, de type « papilionacé », sont zygomorphes, à ovaire supère et cléistogames. Elles apparaissent à l'aisselle des feuilles, solitaires ou groupées en racème par deux ou trois. Le calice, de couleur verte, est formé de cinq sépales soudés et présente cinq dents inégales. La corolle compte cinq pétales très différenciés, l'étendard redressé en position postérieure, les deux ailes en position latérale, enveloppant la carène, elle-même formée de deux pétales inférieurs, partiellement soudés. La corolle est généralement entièrement blanche, parfois rose, pourpre ou violette. L'androcée qui comprend dix étamines, une libre et neuf soudées par leur filet en une gouttière ouverte vers le haut, est dit diadelphé. Le gynécée est formé d'un carpelle unique uniloculaire à placentation marginale portant des ovules recourbés (campylotropes). Ce carpelle est interprété comme l'évolution d'une feuille repliée le long de sa nervure médiane et soudée par ses marges, auxquelles sont attachés les ovules.

La formule florale est donc 5S 5P 10E 1C (formule simplifiée) ou  $\cdot\cdot S(5) P5 E(9) +1 C1$  (formule complète) (Raynal-Roques, 1994).

Les fleurs étant fermées (cléistogamie), la fécondation est principalement autogame, la pollinisation intervenant avant l'épanouissement complet de la fleur. Ce caractère facilite la sélection de lignées pures et le maintien de variétés stables. Toutefois certains insectes hyménoptères, tels les mégachiles sont capables de pénétrer dans les fleurs et de provoquer des pollinisations croisées (Pitrat et Foury, 2003).

Le fruit est une gousse déhiscente bivalve, appelée aussi cosse, de 4 à 15 cm de long, contenant de 2 à 10 graines rondes lisses ou anguleuses, de 5 à 8 mm de diamètre. Ces gousses présentent des variations morphologiques selon les variétés, leur forme générale est droite ou plus ou moins arquée, leur extrémité plus ou moins effilée ou tronquée. Elles comportent généralement une membrane sclérifiée, le parchemin, qui est absente chez les variétés de type « mangetout ». Leur couleur est généralement verte, parfois violette.

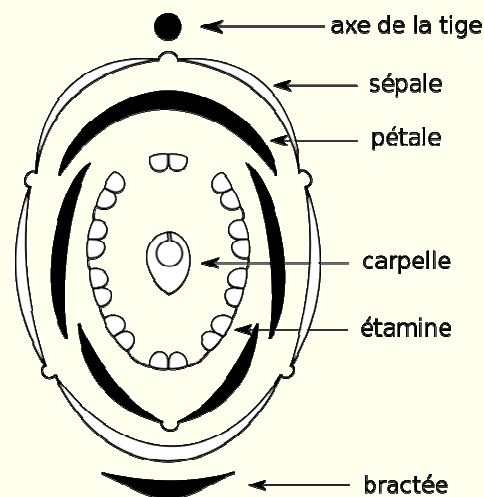
Comme chez toutes les légumineuses, les graines sont exalbuminées et les réserves nutritives à disposition de l'embryon sont contenues dans les deux cotylédons hémisphériques hypertrophiés qui représentent la quasi-totalité du volume des graines. Elles peuvent être de couleur vert pâle à maturité lorsque les cotylédons restent chlorophylliens, ou bien blanchâtre,

jaune ou brunes. Elles peuvent être lisses ou ridées. Leur taille est très variable selon les variétés. Le poids de 1000 grains secs peut aller de moins de 150 g à 300 g (Chaux et Foury, 1994).

Les graines peuvent conserver leur faculté germinative de 3 à 5 ans. Elles ne sont pas soumises au phénomène de dormance et peuvent donc germer immédiatement après avoir atteint le stade de la maturation.

Les cotylédons contiennent des substances de réserve, en moyenne 50 % d'amidon et 25 % de protéines chez le pois protéagineux. L'amidon est constitué d'amylose et d'amylopectine en proportions variables : plus d'amylopectine chez les variétés à graines lisses et plus d'amylose chez celles à graines ridées, qui contiennent par ailleurs plus de sucres (Chaux et Foury, 1994).

La partie protéique est constituée essentiellement de trois fractions protéiques solubles : l'albumine, les vicilines et convicilines, la légumine. La fraction des albumines contient, en faible teneur, diverses protéines biologiquement actives : lipoxigénases, lectines, inhibiteurs de protéases (Page et Duc, 1999)



**Figure 4 : Diagramme floral de *Pisum sativum***

## 5-Écologie

### 5.1-Températures

Le pois cultivé est une plante de climat tempéré frais et relativement humide. Il est moins sensible au froid que le haricot et peut germer à partir de +5 °C. Les jeunes plants (avant le stade de floraison) peuvent supporter le gel, mais les fleurs peuvent être détruites par le froid à partir de -3,5 °C et les nœuds végétatifs à partir de -6 °C. La température moyenne optimale de croissance se situe entre 15 et 19 °C. Au delà de 27 °C, la végétation et la pollinisation risquent d'être affectées.

**5.2-Pluviométrie** : la pluviométrie idéale se situe entre 800 et 1000 mm par an.

**5.3-Photopériodisme** : le pois est légèrement sensible à la photopériode, les jours longs favorisant la floraison.

**5.4-Sols** : le pois s'accommode de tous les types de sols sous réserve qu'ils soient bien drainés et qu'ils offrent une bonne capacité de rétention en eau. Le pH optimal se situe entre 5,5 et 7,0.

## 6-Classification

L'espèce *Pisum sativum* appartient au genre *Pisum*, classé dans la tribu des *Fabeae* (ou *Viciae*) en compagnie des genres proches *Lathyrus* L. (gesses), *Lens* Mill. (lentilles), *Vavilovia* Fed. et *Vicia* L. (vesces). Le genre *Pisum*, après avoir compté plus d'une douzaine d'espèces, n'en regroupe plus que deux : *Pisum sativum* L. et *Pisum fulvum* Sm. Toutes les autres ont été reléguées au rang de sous-espèces ou variétés de *Pisum sativum*, avec laquelle elles sont toutes interfertiles.

Selon (Aubineau et al, 2002) l'espèce *Pisum sativum* présente une très grande diversité génétique qui se manifeste dans les nombreuses variations des caractères morphologiques des fleurs, des feuilles, des tiges, des gousses et des graines, ce qui a motivé diverses classifications des formes intraspécifiques. Les principales sous-espèces et variétés sont les suivantes :

- *Pisum sativum* L. subsp. *elatius* (Steven ex M. Bieb.) Asch. & Graebn. : c'est la forme sauvage des actuels pois cultivés, originaire de la partie orientale du bassin méditerranéen, jusqu'au Caucase, à l'Iran et au Turkménistan, à laquelle se rattache la variété *pumilio*.
  - *Pisum sativum* L. subsp. *elatius* (Steven ex M. Bieb.) Asch. & Graebn. var. *pumilio* Meikle (syn. *Pisum sativum* subsp. *syriacum* Berger) : sous-espèce la plus xérophyte, présente dans la végétation des prairies sèches et des forêts de chênes du Proche et du Moyen Orient, de Chypre et de Turquie, l'Irak et le nord et l'ouest de l'Iran.
- *Pisum sativum* subsp. *transcaasicum* Govorov : forme cultivée dans le nord du Caucase et dans la partie centrale des montagnes transcaucasiennes.
- *Pisum sativum* L. subsp. *abyssinicum* (A. Braun) Govorov : le pois d'Abyssinie est une forme cultivée en Éthiopie et au Yémen.

- *Pisum sativum* subsp. *asiaticum* Govorov : cette forme est cultivée du Proche et du Moyen Orient, jusqu'à la Mongolie, au nord-ouest de la Chine, au Tibet et au nord de l'Inde, ainsi qu'en Égypte. Les graines sont consommées, et servent ainsi que la plante entière à nourrir les animaux.
- *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* : c'est la sous-espèce la plus importante actuellement, elle dérive par la domestication de la forme *Pisum sativum* subsp. *elatius*. Elle compte trois variétés principales :
  - *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* var. *arvense* (L.) Poir. : pois protéagineux, pois fourrager ou pois des champs.
  - *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* var. *sativum* : petit pois, pois potager ou pois des jardins.
  - *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* var. *macrocarpon* : pois mangetout, et pois croquetout (mangetouts charnus).

L'ordre des *Leguminales* ou Légumineuses, comprend plus de 12 000 espèces réparties entre 600 et 700 genres. Cet ordre comprend 3 familles : les *Mimosées*, les *Césalpiniacées* et les *Papilionacées* ou *Fabacées*. Cette dernière famille a une grande importance économique, étant une source de protéines végétales pour l'alimentation animale ou humaine qui ne nécessite pas d'engrais azotés. C'est aussi une source de matières grasses et de bois. On y rencontre aussi des espèces qui présentent un intérêt en tant que plantes ornementales.

### 6.1-Place dans la systématique

Règne	: <i>plantae</i>
Sous-règne	: <i>Tracheobionta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Classe	: <i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	: <i>Rosidae</i>
Ordre	: <i>Fabales</i>
Famille	: <i>Fabaceae</i>
Sous-famille	: <i>Faboideae</i>
Tribu	: <i>Vicieae</i>
Genre	: <i>Pisum</i>

**Nom binominal** : *pisum sativum* (L., 1753)



## 7- Intérêt de la culture de pois

La culture d'une légumineuse telle que le pois a des effets bénéfiques démontrés depuis longtemps. Toutes les variétés de pois sont des lignées pures. On connaît plusieurs milliers de variétés locales dans le monde. Dans les catalogues européens des espèces protégées, figurent (septembre 2008) 1390 variétés inscrites de pois, dont 514 de pois fourragers et 776 de pois potagers, la distinction entre les variétés s'appuie sur de nombreux caractères morphologiques, 73 ont été retenus pour les épreuves DHS (distinction, homogénéité et stabilité) du GEVES « Groupe d'étude et de contrôle des variétés et des semences » (Doré et Varoquaux, 2006).

Ces caractères portent notamment sur la forme et la couleur des graines, des gousses, des feuilles, des tiges, la hauteur des plantes, la présence d'anthocyanes, la forme des grains d'amidon, la résistance à diverses maladies (Gottschalk et Kaul, 1976).

Fontaine et al (2003) stipulent que la culture de pois présente de multiples avantages : se développe sur une période de 4 à 5 mois, peu gourmand en eau, bon potentiel de rendement si la culture est maîtrisée, fixation d'azote, bon précédent pour les céréales.

D'après Francis et al (2000) elle présente un rendement en grains et en fourrage important, susceptible d'être récolté par machine, elle favorise une fertilisation des sols par apport d'azote et présente des teneurs élevée en protéines.

En général, la culture des légumineuses fourragères présente des intérêts multiples :

### 7.1-Intérêt agronomique

L'intérêt agronomique réside dans l'amélioration de la fertilité, en tant que source d'azote, fixant et conservant le sol, étouffant les mauvaises herbes, améliorant la structure du sol....etc.

Les principaux atouts du pois, sont liés à son potentiel de productivité en graines supérieur aux autres légumineuses à graines et à sa précocité de récolte , ainsi qu'à sa paille qui peut constituer un complément fourrager intéressant (Carrouée et al, 2003).

Grace à sa capacité à couvrir ses besoins en azote via la fixation symbiotique, le pois permet de produire des graines riches en protéines sans recours aux intrants azotées et donc à faible cout. D'autres part, dans les rotations céréalières, le pois constitue un bon précédent et permet de réduire les pressions parasitaires.

Les associations à base de pois et de céréale en culture de printemps (orge-pois) ou d'hiver (blé-pois) permettent de réduire de façon significative les adventices, tout en apportant d'autres atouts intéressants entraînant des gains de rendement en comparaison des cultures pures, ces associations réduisent la quantité de mauvaises herbes de moitié dans la majorité des cas (Corre-Hellou et al, 2004). Les chercheurs ont noté qu'en cas d'attaques importantes de maladies aériennes fongiques, l'association céréale et pois réduit le niveau de contamination. Ainsi une diminution de la surface attaquée par l'anthracnose a été observée sur les gousses de pois à maturité. Des réductions des symptômes d'oïdium ont par ailleurs été notées sur les feuilles d'orge.

Par ailleurs, les essais ont mis en évidence une influence de la culture associée sur le taux de protéine de la céréale. En présence de pois, l'orge, ayant davantage d'azote disponible qu'en culture pure, dispose d'une nutrition azotée supérieure. Les gains sont élevés: de 2 à 4 % de protéines (Corre-Hellou, 2004).

## 7.2-Intérêt alimentaires

L'espèce *Pisum sativum* fournit plusieurs types d'aliments tant pour l'homme que pour les animaux :

- les pois secs, c'est-à-dire les graines récoltées à maturité, constituent un légume sec, et sont aussi données aux animaux domestiques soit telles quelles (volailles, oiseaux) soit sous forme de farines (bovins) ; ces graines sont aussi une matière première pour l'industrie de transformation (amidonnerie, extraits protéiques).
- les pois frais, soit sous forme de graines immatures, soit de gousses entières également immatures, sont un légume frais, les « petits pois ».
- les jeunes pousses feuillées sont aussi consommées en légume, particulièrement en Asie, ainsi que les graines germées.
- la plante entière fournit un fourrage aux ruminants, soit en sec, soit en vert, frais ou ensilé ; on utilise aussi à cet effet la « paille », c'est-à-dire les fanes restant sur le terrain après la récolte des gousses ou des graines.

Ce sont les pois potagers ou "petits pois", produits de plein champ ou de maraîchage, soit pour la consommation en frais, soit pour la conserverie (appertisation ou surgélation), soit en grains secs pour la casserie.

L'intérêt technique des protéagineux en alimentation animale n'est plus à démontrer, riche en protéines et en énergie, deux éléments indispensables pour les animaux d'élevage, le pois trouve toute sa place en alimentation animale, il contient surtout de l'amidon, et ses protéines présentent une teneur très élevée en lysine, le premier acide aminé essentiel indispensable à la croissance (Kay, 2007). C'est la raison pour laquelle les cultures de pois se sont beaucoup développées, notamment en Europe, pour la production de protéines destinées aux élevages (porcs et volailles en particulier).

Il est employé pour l'alimentation des porcs et des volailles pour sa richesse en énergie digestible (équivalente à celle du blé) et en lysine. Sa valeur énergétique est bonne pour les ruminants (1kg produit 3.300 à 3.400 kcal).

Des études ont montré que les protéines du pois sont moins bien assimilées par les monogastriques que celles du soja, la digestibilité des protéines peut être limitée à plusieurs niveaux : au niveau de l'hydrolyse par les enzymes digestives, au niveau de l'absorption des produits d'hydrolyse et au niveau de la réaction de l'animal à l'aliment, pouvant se traduire par une perte accrue de protéines endogènes (Perrot, 1995).

Les protéines du pois sont complémentaires de celles des céréales et des tourteaux de colza, pauvres en lysine mais mieux pourvus en acides aminés soufrés. Pois et colza sont donc deux matières premières qui se complètent et diversifient, avec le soja, l'offre en protéines végétales destinées à l'alimentation animale.

Le pois est généralement cultivé en association avec une céréale, triticale ou avoine, qui lui sert de tuteur et qui est récolté sec ou immature. On utilise également la paille (c'est-à-dire les fanes) laissées sur le champ après la récolte des pois pour nourrir les ruminants.

D'après (Kay, 2007) une étude récente montre également qu'en remplaçant le soja par du pois dans les aliments pour porc, on réduit l'énergie consommée et les émissions de gaz à effet de serre. C'est donc mieux pour l'environnement. En revanche, Le taux d'incorporation du pois dans l'alimentation des ruminants reste faible (2%) (Maaroufi, 2001).

### **7.3-Intérêt économique**

Avec plus de 18 millions de tonnes récoltées en 2007, le pois est la quatrième légumineuse au plan mondial. Selon les statistiques de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), en 2007, la production mondiale de pois secs était de 14,69 quintaux par hectare, et celle du pois frais, de 7,6 quintaux par hectare. Les deux principaux producteurs de pois frais, Chine et Inde, représentent près de 70 % du total mondial.

Pour les pois secs, plus de 90 pays producteurs sont recensés dans le monde, cependant les cinq premiers représentent plus de deux tiers de la production totale et les quinze premiers plus de 90 %. Le Canada, avec 3 millions de tonnes, soit 30 % de la production mondiale, est de loin le premier pays producteur. La production de pois secs est affectée principalement à l'alimentation humaine (pour près de la moitié de la production), puis à l'alimentation animale (35 %), le troisième poste étant l'utilisation comme semences (source FAO).

Par ailleurs, on note que la culture du pois repose sur un concept simple qui est la réduction des coûts annuels des dépenses en engrais, grâce à la richesse du sol en azote, l'utilisation de ce dernier « gratuit » produit par ces espèces fourragères, permet de limiter la pollution des nappes phréatiques par les nitrates des engrais (Bellon, 1993). Ainsi que dans le cadre d'une rotation culturale, un effet bénéfique se répercute sur le blé planté après lui : il demande moins d'agents de fertilisation. Les analyses des cycles de vie montrent qu'une rotation de culture à base de pois réduit de 11% la consommation d'énergie et économise 8% de gaz à effet de serre.

### **7.4-Autres utilisations**

Le pois, à l'instar d'autres légumineuses à pousse rapide comme la vesce ou la gesse, peut être cultivé comme engrais vert. Il présente l'avantage, intéressant notamment en culture biologique, d'enrichir le sol en azote et d'améliorer sa structure (Frick et Lawley, 2002).

Une partie de la production est transformée par l'industrie agro-alimentaire, qui en tire outre des purées instantanées, divers dérivés de l'amidon (amidons natifs, amidons modifiés, sirop de glucose, maltodextrine, dextrose, isoglucose), des protéines (extrait protéique à plus de 45 %, concentré à 65 % de protéines, isolé à 90 % de protéines, et des fibres (fibres micronisées) contenues dans les graines de pois.

Selon le ministère de l'agriculture et de la pêche français ces produits, en concurrence avec ceux extraits d'autres légumineuses ou féculents, dont le soja et le maïs, ont des débouchés principalement dans le secteur agro-alimentaire (pâtisserie, biscuits apéritifs,

charcuterie, yaourts, aliments diététiques et de santé, aliments infantiles, etc.), mais aussi dans les secteurs pharmaceutique, chimique, papetier, adhésifs, etc. Des recherches en cours visent à utiliser les dérivés protéiques dans d'autres secteurs, comme les films d'emballage et le traitement de surface.

## 8-Origine et histoire

Le pois est une plante très anciennement cultivée dans l'Ancien monde puisque sa culture a vraisemblablement commencé il y a environ 8000 ans dans le moyen orient, dans le même processus que certaines céréales (blé, orge) et d'autre légumineuses (vesce, lentille). On a découvert dans des sites archéologiques du Néolithique de la Grèce à l'Irak entre 7500 et 5000 ans avant Jésus-Christ, des restes provenant soit de plantes de cueillette, soit de plantes domestiquées. Par la suite, sa culture s'est diffusée vers l'ouest (Europe) et vers l'est (Inde). On en trouve trace notamment dans le site d'Hissarlik (l'antique Troie), en Europe centrale (vers -4000 ans), en Europe occidentale (vers -2000 ans) et en Inde vers -2000 ans également (Pitrat et Foury, 2003). Des restes de pois ont été retrouvés notamment dans des habitats lacustres du début de l'Âge du bronze en Suisse et en France (lac du Bourget) (Cousin, 1992).

Des traces évidentes d'utilisation du pois ont été retrouvées dans de nombreux vestiges, il y a 9 à 10 000 ans en Anatolie, en Iran, en Grèce et en Palestine. D'où l'idée que le pois serait originaire de l'Orient, de l'Inde ou de la Perse et qu'il aurait ensuite été importé en Asie Mineure et en Europe par les peuples aryens. Importation très ancienne puisque des pois ont été trouvés à l'âge de bronze en Suisse dans les cités lacustres. L'Antiquité grecque, avec le botaniste THEOPHRASTE (300 ans avant J.C.), connaît le pois ainsi que l'Antiquité latine avec PLINE et COLUMELLE. PLINE décrit dans son Histoire Naturelle un pois sensible au froid ; aussi peut-on penser qu'il ne s'agit pas de *Pisum sativum* L. mais de *Pisum elatius* (Bieb), une espèce très voisine. A cette époque, le pois devait être très peu cultivé, loin derrière la fève. Il servait aussi bien pour l'alimentation humaine qu'animale.

Au Moyen-âge, le pois semble prendre de plus en plus d'importance et rejoint la fève et le blé. Au XIIIème siècle, on en fait du potage, et surtout de la purée.

L'introduction du pois dans le Nouveau monde a été faite pour la première fois à Saint-Domingue par Christophe Colomb lors de son premier voyage en Amérique.

Puis les Hollandais commencèrent vers 1610 à consommer les pois encore verts. Cette pratique entre en France en 1660, lorsque Louis XIV reçoit de Gênes des pois à écosser qui furent cultivés par LA QUINTINIE (Toussaint-Samat, 1987).

C'est en 1597 que l'anglais GERARDE commence des essais de classification en distinguant quatre groupes : *Pisum majus* (pois à rames), *Pisum minus* (pois demi-nain), *Pisum umbellatum* (pois en ombelles à tiges fasciées), *Pisum excorticatum* (prototype du pois sans parchemin).

En 1693, LA QUINTINIE mentionne sept types de pois selon la forme, la couleur du grain et la taille de la plante : grands, petits, blancs, jaunes, verts, ronds et semi-aplatés.

Au XIXème siècle, les botanistes ROUY et l'abbé COSTES, dans leurs Flores de France, distinguent trois espèces :

- *Pisum sativum* L. pois cultivé, originaire d'Europe et d'Asie du Nord.
- *Pisum arvense* L. pois des champs, originaire d'Europe et d'Asie du Nord.
- *Pisum elatius* (Bieb): pois originaire de la région méditerranéenne et de la Mer noire. Plus

tard, WELLENSIEK, n'admettra qu'une espèce, *Pisum sativum*, avec la subdivision:

- *Pisum sativum hortense* : *Pisum sativum* L., pois potager ou petit pois,

- *Pisum sativum arvense* : pois fourrager.

- *Pisum sativum elatius*.

C'est dans ce même siècle en croisant des lignées pures homozygotes de pois ronds et ridés, à fleurs blanches et à fleurs rouges que MENDEL découvrit les lois régissant la transmission des caractères héréditaires.

- Première loi : Uniformité des hybrides en première génération
- Deuxième loi : Ségrégation indépendantes de plusieurs couples de caractères en seconde génération

Thomas Jefferson, qui fut le troisième président des États-Unis, de 1801 à 1809, passionné de sciences et en particulier d'agronomie, s'intéressa beaucoup à la viticulture, mais aussi aux petits pois. Il en cultiva de nombreuses variétés dont il cherchait à améliorer la précocité dans son domaine de Monticello (Virginie) .

En 1926, la société américaine Minnesota Valley Canning Company, qui prendra par la suite le nom de *Green Giant*, crée la marque « Géant Vert » pour commercialiser des petits pois, plus grands que les petits pois habituels .

En Europe, notamment en France, la culture du pois protéagineux s'est fortement développée dans les années 1970-1980 comme source de protéines pour l'alimentation animale. Le facteur déclencheur fut l'embargo décrété en 1973 par les États-Unis sur leurs exportations de tourteaux de soja, qui mit en évidence la dépendance stratégique de l'Europe vis-à-vis des importations. En France par exemple, les surfaces cultivées sont ainsi passées de 500 hectares en 1977 à 500 000 hectares en 1985. Depuis la fin des années 1990, les surfaces ensemencées en pois tendent à régresser du fait de la baisse relative des aides communautaires.

Depuis le début des années 1990, le Canada, cherchant à diversifier ses productions agricoles, a doublé sa production de pois secs dont il est devenu le leader mondial et également le premier exportateur, notamment vers l'Inde (Goodwin, 2003).

En 1998, une carte génétique consensuelle du pois est établie et validée par les résultats obtenus dans trois laboratoires différents (Weeden et al ., 1998).

## 9-Nutrition azotée

Le pois est principalement cultivé pour ses graines riches en protéines. La teneur en protéines des graines dépend pour une grande part de la quantité d'azote disponible pour le remplissage des graines en fin de cycle (Schiltz, 2008).

Le pois utilise pour sa nutrition azotée des formes combinées d'azote (azote minéral), soit des ions ammonium  $\text{NH}_4$ , soit des ions nitrates, comme toutes les légumineuses, il utilise aussi une seconde forme de nutrition azotée qui est la fixation d'azote atmosphérique par des microorganismes symbiotiques en l'occurrence *Rhizobium leguminosarum* , qui réduisent les

molécules d'azote en ammonium. Sans la présence de ces microorganismes fixateurs (rhizobia), le sol perdrait progressivement son potentiel d'azote.

## 10-Composition biochimique et valeur nutritionnelle

Les graines de légumineuses contiennent des composés organiques différents tels que les carbohydrates, les lipides et les protéines. Du point de vue nutritionnel, ces graines se caractérisent essentiellement par leur teneur élevée en protéines, ce qui justifie, en partie, le caractère vital qu'elles détiennent en alimentation animale et humaine. Mais leur aptitude à satisfaire les besoins protéiques varie suivant la composition de ces protéines en acides aminés indispensables à la vie, complémentaires de celles des céréales, avec des teneurs élevée en lysine (avoisinant de 18 g/kg de matière sèche) et faible en acide aminé soufré : cystéine, méthionine (Mouricio et *al.*, 2000).

La partie glucidique des pois est formée essentiellement d'amidon (amylose et amylopectine en proportion variable selon les variétés) qui représente en moyenne 50 % de la graine, et de sucres (environ 6 %), comprenant du saccharose et des oligosaccharides. Comme toutes les graines de légumineuses, ils ont un index glycémique modéré, voisin de 32 (100 étant la valeur attribuée par convention au glucose).

Ils sont aussi riches en protéines. Celles-ci, à teneur élevée en lysine, sont toutefois déficientes en certains acides aminés essentiels comme la méthionine et le tryptophane. En les associant avec des aliments à base de céréales (par exemple du pain), qui sont au contraire déficients en lysine, on obtient une bonne complémentarité. En alimentation animale, le pois fait partie des plantes protéagineuses et constituent l'une des « matières riches en protéines » aux côtés d'autres produits ou sous-produits entrant dans la composition des rations animales, comme la fêverole, le lupin, les tourteaux de soja, de colza, de tournesol, etc., et des fourrages déshydratés (luzerne).

Les pois sont une bonne source de minéraux, notamment potassium, phosphore, calcium et fer, ainsi que de vitamines B, notamment de folate ou vitamine B9 (70 µg/100g) (Bonduelle, 1995). Ils se distinguent également par leur très faible teneur en matières grasses, moins de 2 %, majoritairement constituées d'acides gras insaturés ou polyinsaturés, et par l'absence de gluten.

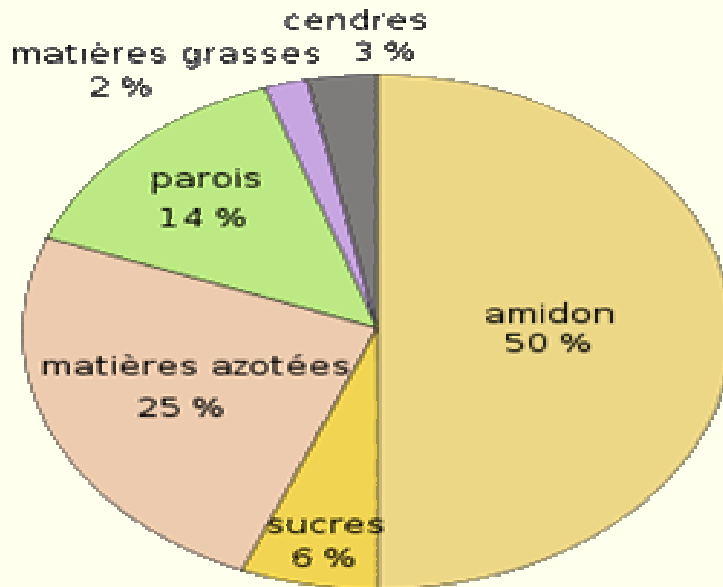
Les petits pois, plus riches en eau (74 %), n'apportent que 92 cal/100 g (crus), mais sont plus énergétiques que la majorité des légumes verts. Ils sont plus riches en sucres solubles que les pois secs. Ils sont aussi intéressants pour leurs apports en lysine et en fibres, composées en majorité d'hémicelluloses lorsqu'ils sont jeunes. Les petits pois sont aussi une bonne source de vitamine C (acide ascorbique) avec 25 mg/100 g.

Les graines de pois secs contiennent divers facteurs antinutritionnels, notamment des facteurs anti-trypsiques et des tannins, en quantités toutefois nettement plus faibles que chez d'autres légumineuses comme le haricot ou le soja. Les tannins, présents dans le tégument des graines, sont absents des variétés à fleurs blanches. Les tannins donnent en effet un goût amer aux graines et diminuent leur digestibilité.

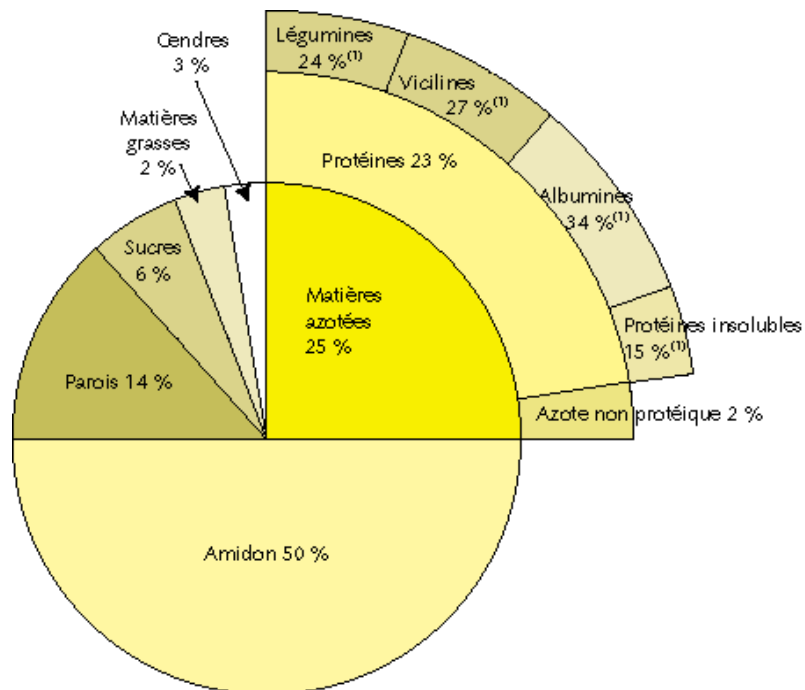
La consommation de pois peut provoquer des réactions allergiques chez certaines personnes, elles sont provoquées par certaines protéines, les vicilines, présentes aussi chez la lentille et d'autres légumineuses (Sanchez-Monge et *al.*, 2004).

Eau	12g
Valeur calorique	330kcal
<b>Protides/Glucides/Lipides</b>	
Protides	23g
Glucides	56g
Lipides	1,7g
<b>Vitamines</b>	
Vitamine B1	0,77mg
Vitamine B2	0,20mg
Vitamine B3 ou pp	3,1mg
Vitamine C	3mg
Vitamine K	930mg
<b>Sels minéraux</b>	
Calcium	60mg
Chlore	50mg
Fer	5,5mg
Potassium	930mg
Magnesium	130mg
Sodium	40mg
Phosphore	380mg
Soufre	219mg
Zinc	3,5mg
<b>Acides gras</b>	
<b>Acides aminés essentiels</b>	
Isoleucine	930mg
Leucine	1480mg
Lysine	1620mg
Méthionine	210mg
Phénylalanine	1000mg
Thréonine	860mg
Tryptophane	210mg
Valine	1000mg
<b>Divers</b>	
Fibres	15g
Cellulose	5,4g

**Tableau 1 : Composition biochimique et valeur nutritionnelle du pois sec d'après Messiaen et al (2006)**



**FIGURE 5 : Composition moyenne d'une graine de pois protéagineux**



**Figure 6 : La diversité des compositions protéiques observée chez le pois  
Chromatogrammes de deux génotypes contrastés pour leur composition protéique.**