

PSDR Recherches "Pour et sur le développement régional" en Languedoc-Roussillon

Agriculture et agroalimentaire dans le développement des territoires en Languedoc-Roussillon : quelles questions à la recherche ?

Contribution à la mise en place d'AOC pour la filière châtaigne

Participants

Animateur et contact :
Rémi Alary, Marie-Françoise
Gautier et Philippe Joudrier,
Inra, UMR-PIA,
Equipe «gènes, protéines du
grain et qualité des blés»,
2 Place Pierre Viala,
34060 Montpellier Cedex 2.

Partenariat et professionnels rencontrés

Acquaviva J. Y, Producteur
(101 L'Acquale, 20224 Lozzi),
Beremi C, Producteur
(20234 Felce),
Bouchet M et Boutitie A
(SIME-ULRAC Domaine de
Saporta, 34970 Lattes),
Canepa H, Producteur
(Pialouzet, 30450 Malons),
Chevrier Y (SICA du Caroux
34600 Bédarieux),
Debellut S, Syndicat
producteur de châtaigne
(07000 Privas),
Dhombres M, Producteur
(Falguières, 30460 Lasalle),
Domergue J (Chambre
d'Agriculture de l'Ardèche
07001 Privas),
Duplan P, Producteur
(Genestelle, 07530 Bise),
Franchi C, Animatrice
démarche AOC
farine de châtaigne
(20230 San Giovanni),
Galiana P, Producteur
(07110 Laboule),
Martin M et Rosec J.P
(DGCCRF Montpellier),
Masméjean C, Producteur et
Président de Fariborne,
(48800 Pied-de-Borne),
Mathieu M, Président de
l'ULRAC (48160 Saint Andeol
de Clerguemont),
Pasquin F, Producteur
(20224 Lozzi),
Rouves M (Station Exp de
Creyse 46600 Creyse),
Segade M. J, Producteur
(30450 Malons).



Introduction

Le châtaignier est un arbre dont les fonctions et les usages multiples ont varié au cours du temps. La châtaigneraie était autrefois le pivot de l'économie rurale dans plusieurs régions françaises, notamment les Cévennes (75 000 ha), essentiellement par la production de fruits, base de l'alimentation. Cette châtaigneraie qui a connu son apogée au milieu du XIX siècle, de part l'accroissement important de la population et du faible rendement céréalier, a été progressivement abandonnée suite à différents événements historiques (élevage du ver à soie, industries de tissage, ouverture de nouvelles voies de communications, exode rural, maladies du châtaignier, etc.). En Région Languedoc-Roussillon, elle ne concerne plus aujourd'hui que 40 000 ha dont une petite partie seulement est en production (environ 1000 ha pour une production de 1400 t). Cependant, le châtaignier apporte tout de même un complément de revenu non négligeable pour les exploitations agricoles situées

dans des zones rurales «défavorisées» et la rénovation de la châtaigneraie peut de nos jours être à la source de développement économique et, par là, source d'emploi. Ce développement économique est obtenu grâce à la production de fruits frais, de fruits transformés (marrons glacés, crème de marron, châtaignons, farine de châtaigne, etc.) mais aussi par la filière bois, également le tourisme vert et les soutiens à l'entretien de l'espace rural. D'autres régions françaises produisent également de la châtaigne : l'Ardèche (5000 t), la Corse (1500 t), la Dordogne et le Sud-Ouest (1800 t), le Limousin et le Sud du Massif Central (1200 t), la Bretagne (400 t), le Var et les Alpes du Sud (250 t) et les Pyrénées (150 t). Au niveau national, la production atteint donc approximativement 11700 t pour une consommation de l'ordre de 20000 t, le complément étant importé de différents pays (Turquie, Italie, Portugal, Espagne et Grèce).

Actuellement, dans plusieurs régions, des démarches sont entreprises pour mettre en place des appellations

d'origine contrôlée : « châtaignes et marrons des Cévennes et du Haut Languedoc », « châtaigne et marrons d'Ardèche » ou « farine de châtaigne Corse ». Elles visent à valoriser une notoriété acquise de longue date. La dénomination AOC nécessite la mise en place d'un cahier des charges très strict qui prend en compte nécessairement des aspects de traçabilité ainsi que la possibilité de certifier l'origine et la pureté des produits. Cette AOC vise l'ensemble des produits finis qui découle de cette filière et notamment la farine de châtaigne qui est bien valorisée (6 à 9 €/kg) et dont la production française avoisine les 600 t, ce qui représente environ 5 à 6000 t de châtaignes fraîches. Malgré ce faible tonnage, la farine constitue un revenu non négligeable pour certains producteurs de châtaignes.

En 2002, une enquête de terrain a été réalisée auprès d'un certain nombre d'acteurs de la filière châtaigne en Région Languedoc-Roussillon mais également hors Région. Elle a montré qu'il y avait un intérêt certain pour le développement d'un test de pureté dans le cadre de la démarche AOC (D'Amato et Buissonade, 2002). En plus de cet aspect AOC, il serait utile de pouvoir certifier qu'une farine de châtaigne ne contient pas de farines issues de céréales à gluten, car c'est un argument important pour le marché ciblé des consommateurs intolérants au gluten (maladie cœliaque) ou allergiques à certaines céréales.

Suite à une réunion (juillet 2002) avec des producteurs de farine de châtaigne et des représentants de l'interprofession (Coopératives Castanéicoles des Cévennes, de Lozère, des syndicats professionnels, etc.), nous avons défini les espèces végétales dont les farines pouvaient être mélangées à celle de châtaigne. Ainsi, le blé dur, le blé tendre, le seigle, l'orge, le maïs, le riz, le pois chiche et la fève ont été retenues car elles fournissent des farines d'un prix largement inférieur à celui de la farine de châtaigne. Nous avons également défini certains critères tel le seuil de détection (1%) et le coût maximum de l'analyse (moins de 20 € par échantillon). Notez cependant que ce seuil sera insuffisant pour la certification sans gluten.

L'objectif de ce programme a consisté à mettre au point une technique permettant de certifier la pureté des farines de châtaigne. Compte tenu de notre expertise dans d'autres domaines, i.e. la détection des OGM (Alary *et al.*, 2002a) et l'adultération des pâtes alimentaires par de la farine de blé tendre (Alary *et al.*, 2002b), nous avons choisi de développer une technique basée sur l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) de séquences d'ADN spécifiques de telle céréale et/ou de légumineuse.

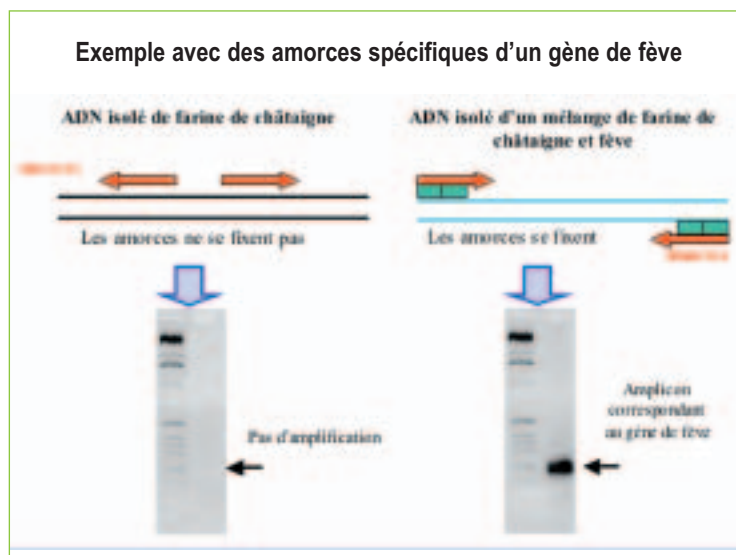
Matériels et méthodes

◆ Des échantillons de farine de châtaigne de différentes origines, de céréales (blés dur et tendre, seigle, orge, maïs), de légumineuses (pois chiche, fève) ainsi que divers mélanges correspondant à des proportions

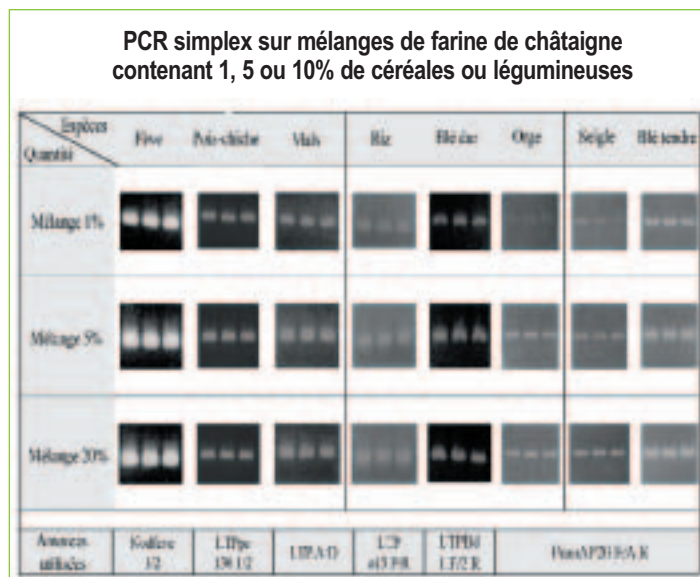
variables de farine de châtaigne et de farine adultérante (blé, orge, pois chiche, etc.) ont été utilisés dans le cadre de cette étude.

◆ La mise au point, standardisée, des conditions d'extraction de l'ADN des différentes farines a été réalisée à partir d'un kit d'extraction "DNeasy Plant mini Kit" commercialisé par la société Qiagen.

◆ L'amplification en chaîne par polymérase (PCR) de séquences d'ADN cibles des différentes céréales et



légumineuses a été optimisée et validée en fonction des couples d'amorces choisies de façon à générer des produits d'amplification spécifiques de chacune des espèces adultérantes.



PCR Simplex : Tous les travaux destinés à la sélection des amorces, de même que ceux réalisés sur les mélanges ont d'abord été réalisés en PCR simplex (un seul couple d'amorces par réaction).

PCR duplex sur mélange à 1% de chaque farine adultérante



PCR Duplex : Des PCR duplex ont été réalisées, sur les extraits d'ADN issus des mélanges, dans les mêmes conditions réactionnelles que les PCR simplex, à la différence près que deux couples d'amorces ont été introduits dans chaque réaction.

La caractérisation des produits d'amplification est réalisée par électrophorèse. L'ADN est coloré avec du bromure d'éthidium. La taille des produits d'amplification est appréciée au moyen d'un marqueur de poids moléculaire.

Conclusion et perspectives

Ce travail a permis

- ◆ de mettre au point une technique de détection, par PCR simplex ou duplex, de la présence de farines de

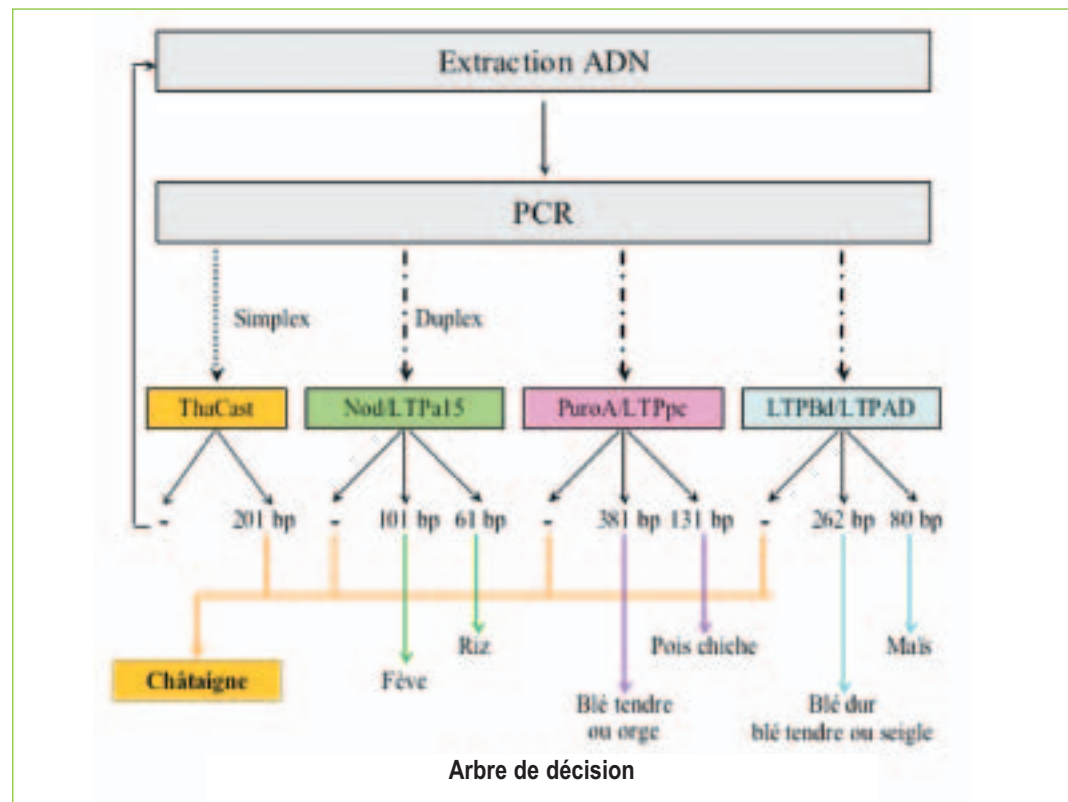
céréales (blé tendre, blé dur, seigle, orge, maïs et riz) et de légumineuses (fève et pois chiche) au seuil de 1%,

- ◆ d'élaborer un arbre de décision pour interpréter les résultats. (schéma),

- ◆ de proposer une technique d'analyse à un prix abordable (15 € par échantillon pour une série de 10 farines à tester),

- ◆ de valider la technique mise au point avec le laboratoire Inter-régional de la DGCCRF de Montpellier (J.P. Rosec). Des farines de châtaigne de différentes provenances (32 farines françaises et 10 farines importées d'Italie) ont été prélevées par la DGCCRF (M. Martin) et analysées (sous numéros codés) par les 2 laboratoires (DGCCRF et Inra) par PCR duplex. Les résultats obtenus par les deux laboratoires sont identiques et indiquent que 39 échantillons de farines de châtaigne ne contiennent pas de farine des céréales ou légumineuses recherchées. Trois échantillons étiquetés «mélange pour panification» ont été identifiés comme farines de châtaigne contenant du blé tendre. En conclusion, nous pouvons dire que l'ensemble des farines de châtaigne prélevées et testées est conforme à la réglementation en vigueur.

Pour répondre aux exigences des consommateurs atteints de la maladie cœliaque (intolérance au gluten), il est nécessaire d'abaisser de 100 à 1000 fois le seuil de détection (0,01 à 0,001 %) et de pouvoir évaluer la quantité de gluten qui se trouve dans l'échantillon par des techniques de PCR quantitatives en temps réel. Cet aspect n'a pas été abordé dans ce travail, il devra faire l'objet d'une nouvelle étude.



Pour en savoir plus :

D'Amato S, Bouissonade C. 2002. Mise au point d'une technique de détection d'adultération des farines de châtaigne. Rapport bibliographique (42p). IUP Biotechnologies et Bio-industries. Montpellier II.

Bouissonade Cyril, 2003. Mise au point d'un protocole de détection d'adultération dans les farines de châtaigne. Rapport de stage IUP B3 option : Biotraçabilité-Biodétection et Biodiversité Montpellier II.

Alary R, Gautier M-F, Joudrier P. 2002a. La PCR quantitative en temps réel: Application à la quantification des OGM. OCL 9, 468-473.

Alary R, Serin A, Duviol M-P, Joudrier P, Gautier M-F. 2002b. La PCR quantitative en temps réel et l'adultération des produits céréaliers : Application aux pâtes alimentaires. Industries des Céréales 12, 7-14.

Alary R, Gautier MF, Joudrier P. 2005. Contribution à la mise en place d'une AOC pour la filière châtaigne. Rapport Final programme DADP2.

Alary R, Bouissonade C, Joudrier P, Gautier MF. 2006. Detection and discrimination of cereal and leguminous species in chestnut flour by duplex PCR. Eur Food Res & Techno (soumis).