

**Analyse et identification des caractéristiques génétiques  
influençant la composition  
du grain de blés destinés à la production de bio-éthanol**

**G. BRANLARD<sup>1</sup>, C. DEBITON<sup>1</sup>, P. GADONNA<sup>2</sup>, L. RAZHI<sup>2</sup>, P. LEREBOUR<sup>3</sup>**

*1 : INRA Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales, 63100 Clermont-Ferrand*

*2 : Institut Polytechnique LaSalle Beauvais, (I.P.L.B.) 60 000 Beauvais,*

*3: CETAC, rue Coq Héron, 75001 Paris*

**Avec la participation des sélectionneurs du CETAC**

**S. Dutriez, CAUSSADE semences; J.M. Delhaye, LEMAIRE Deffontaines ;**

**S. Sunderwirth, MOMONT et fils ; C. Michelet, R2N ;**

**V. Lein, SAATEN Union Recherche; P. Giraudeau, SECOBRA Recherche ;**

**P. Lerebour, UNISIGMA**



## Partenaires

**CETAC :**

Essais multi-locaux

**Unisigma GIE :**

Responsable bourse CIFRE



**INRA de Clermont-Ferrand :**

Etude des caractéristiques physico chimiques du grain

Analyses statistiques

Analyses protéomique et génétique,



**IPLB :**

Pilote de production de bio-éthanol

Détermination du contenu en amylose



## Quelques définitions

**Les biocarburants sont :**

- issus de la transformation de matières premières organiques non-fossiles provenant de la biomasse.
- renouvelables, consommés à une vitesse proche de celle de la régénération de la source.

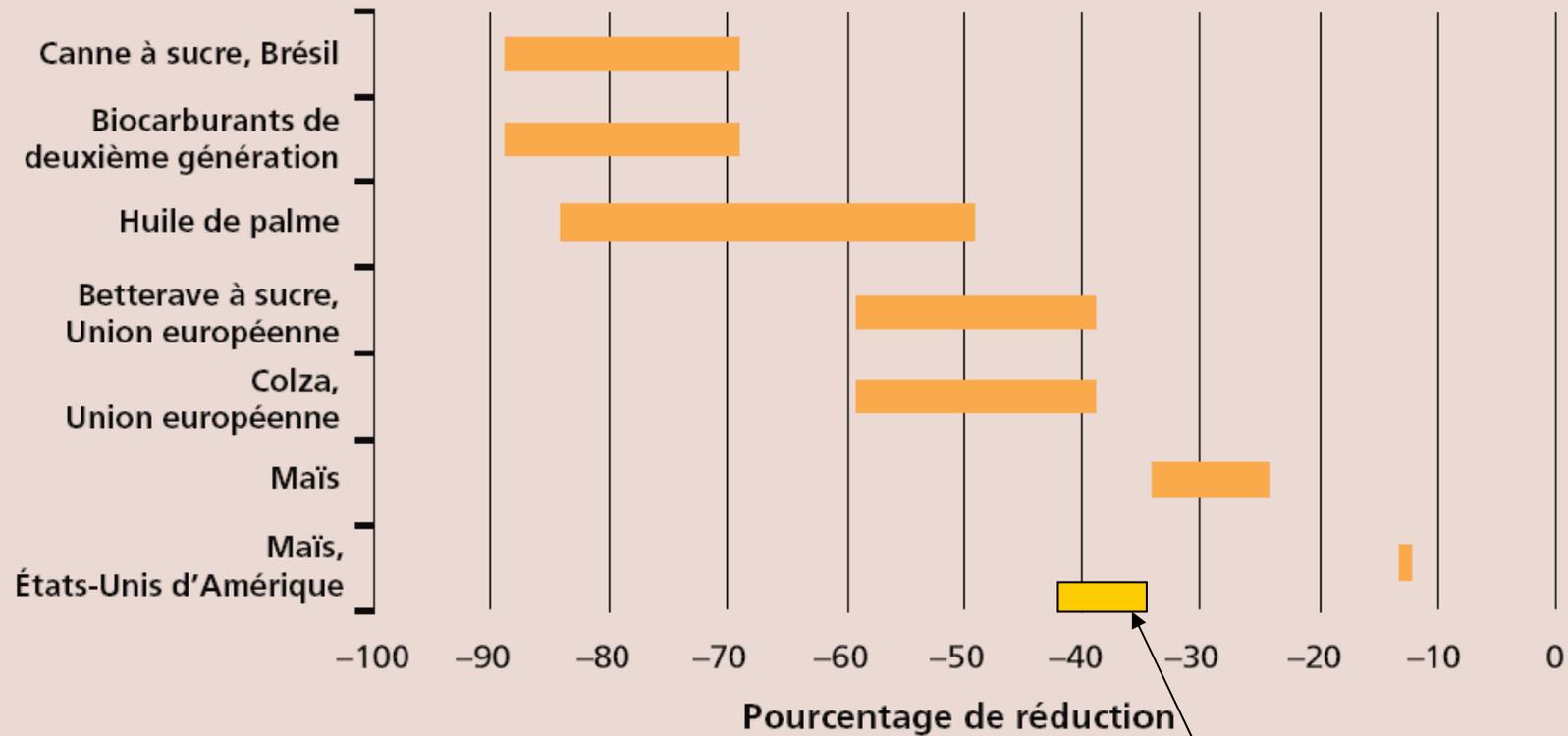
**Les biocarburants sont dits:**

**De première génération;** Si issus de produits alimentaires :

**De seconde génération;** Si produits à partir de sources non alimentaires :.



## Réductions des émissions de gaz à effet de serre produits par certains biocarburants par rapport à des carburants fossiles



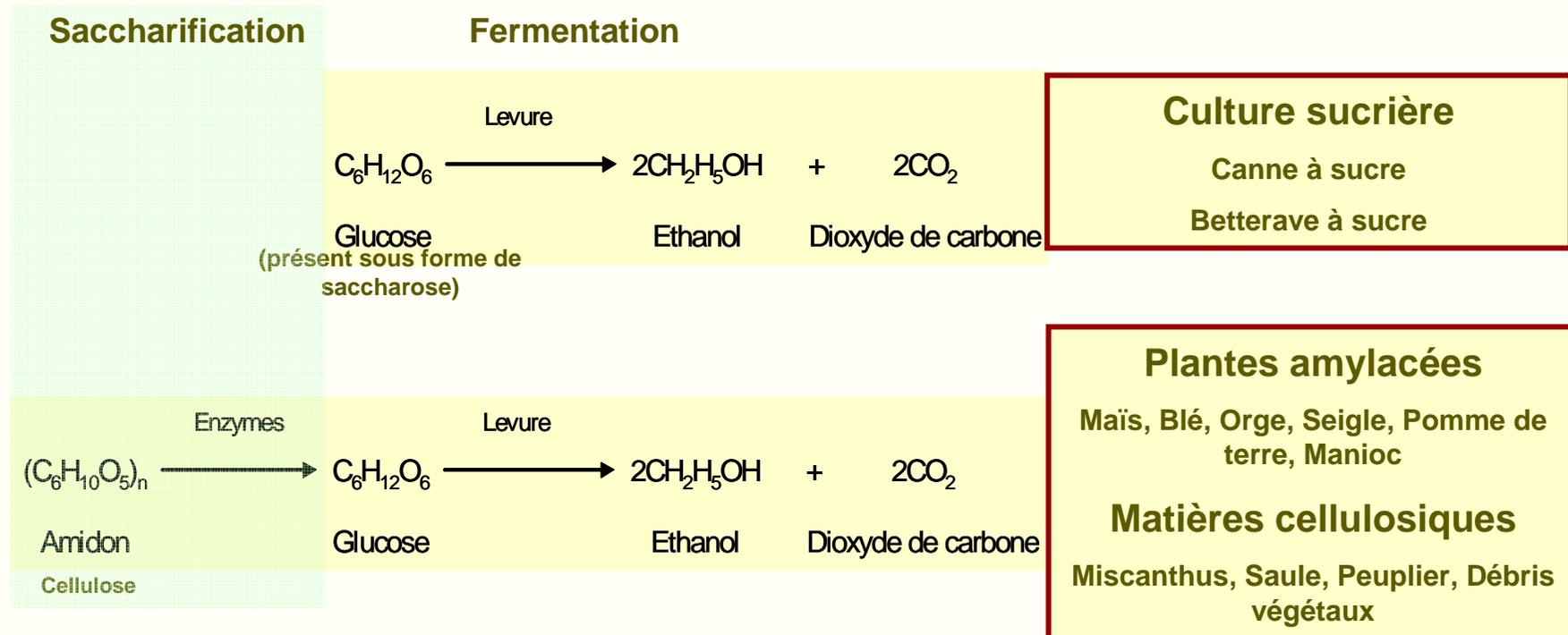
Note: Exclut les effets du changement d'affectation des terres.

Sources: AIE, 2006, et FAO, 2008d.

**Blé**

Source ADEME 2010

## Les bioéthanol

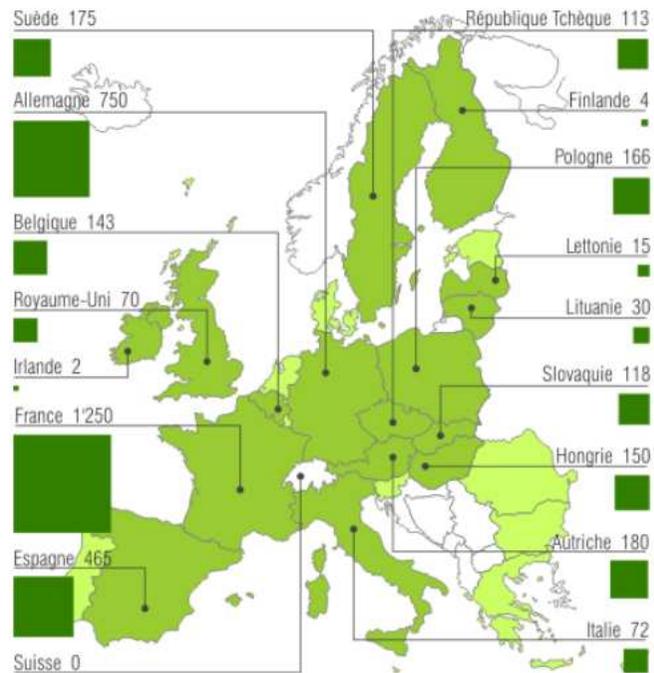


### Production optimale d'éthanol à partir de 1t MS blé tendre

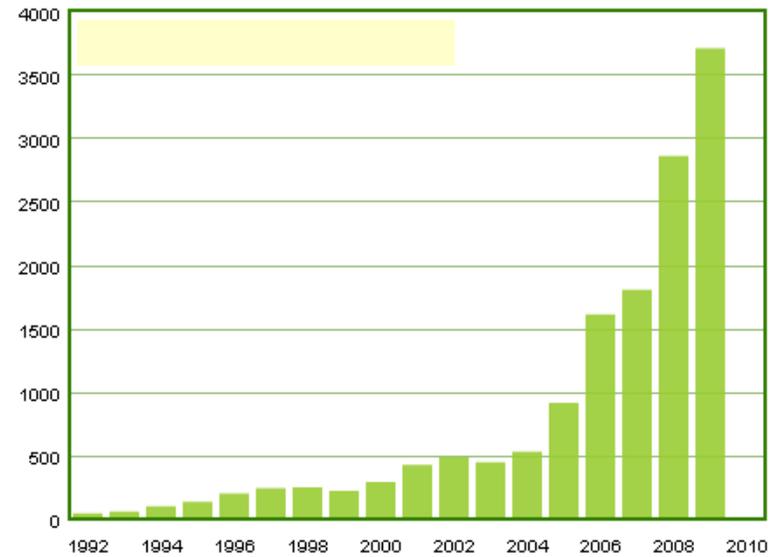
**720 Kg**  $\longrightarrow$  **518 L**  
 Amidon 69%  
 Sucre 3%



## La production de bioéthanol dans l'Union Européenne



Production de bioéthanol en Ml dans l'Union Européenne

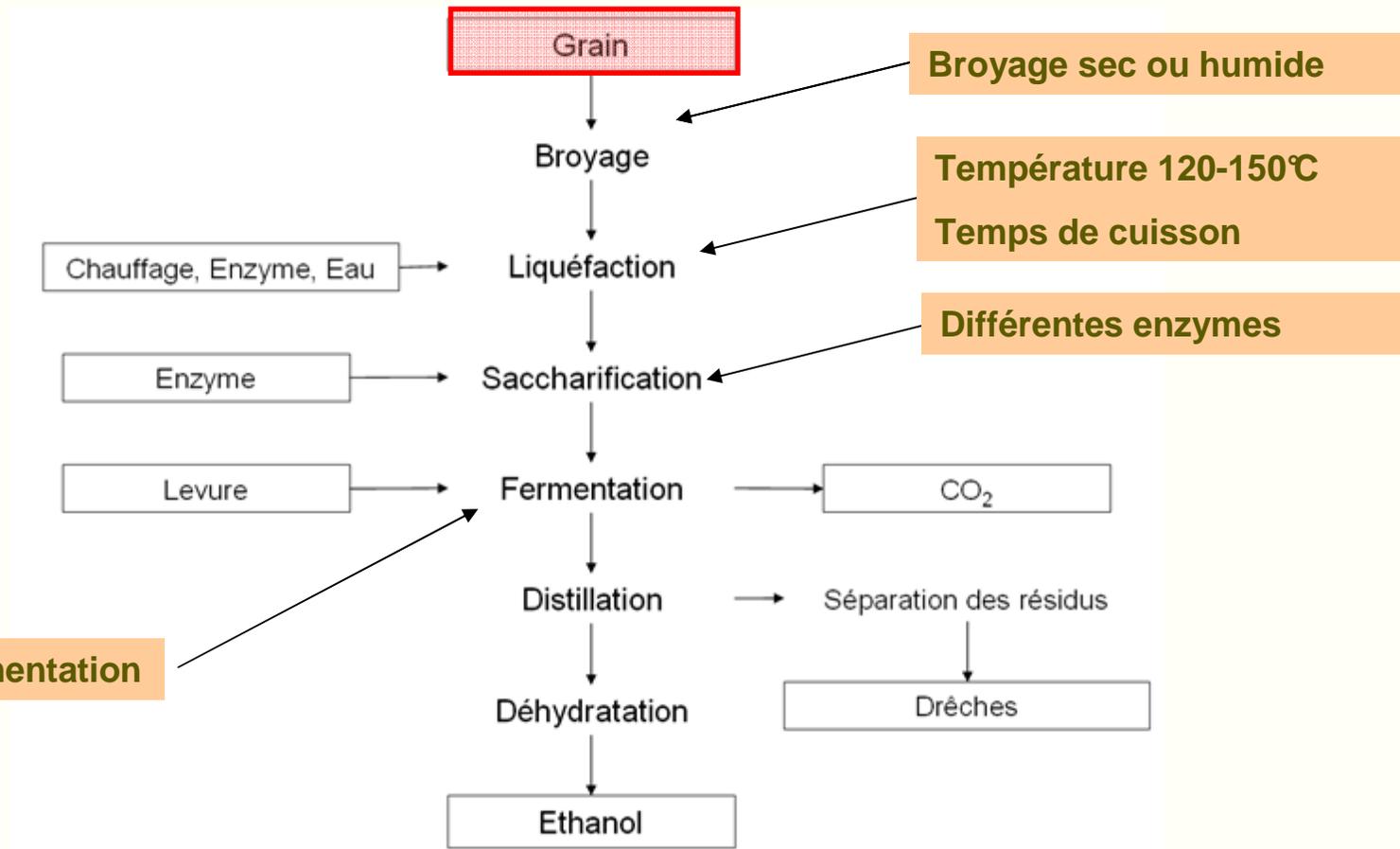


Source: ENERS energy concept

Pays	Production annuelle [Ml/an]						
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
FR France	103	101	144	293	539	950	1'250
DE Allemagne	0	25	165	431	394	581	750
ES Espagne	201	254	303	402	348	346	465
AT Autriche	0	0	0	0	15	89	180
SE Suède	65	71	153	140	120	78	175
PL Pologne	76	48	64	120	155	200	166
HU Hongrie	0	0	35	34	30	150	150
BE Belgique	0	0	0	0	0	51	143
SK Slovaquie	0	0	0	0	30	94	118
CZ République Tchèque	0	0	0	15	33	76	113
- Autres	0	29	49	173	139	240	193
<b>EU-27 Europe des 27</b>	<b>446</b>	<b>528</b>	<b>913</b>	<b>1'608</b>	<b>1'803</b>	<b>2'855</b>	<b>3'703</b>



## Amélioration des étapes du processus de transformation



## Objectifs

**1-Mise en évidence des caractéristiques du grain, de composition de l'amidon et de ses propriétés d'hydrolyse associées à une variabilité génétique**

**2-Identification de l'effet des trois gènes waxy sur les paramètres de rendement et de vitesse de conversion de l'amidon dans la production de bioéthanol**

**3-Mise à disposition de marqueurs et ou de variables de mesures utilisables en sélection.**

**4-Identification des caractéristiques optimales à rechercher dans un génotype pour obtenir une variété à haut rendement en éthanol.**



## Année 1

**30 cultivars x 4 Lieux (LeD, SEC, SUR, R2N) x 2 traitements N**

## Année 2

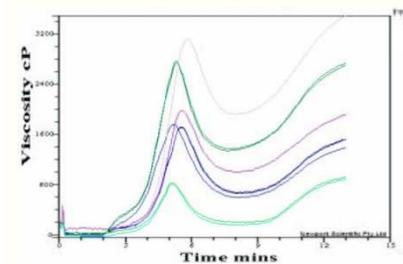
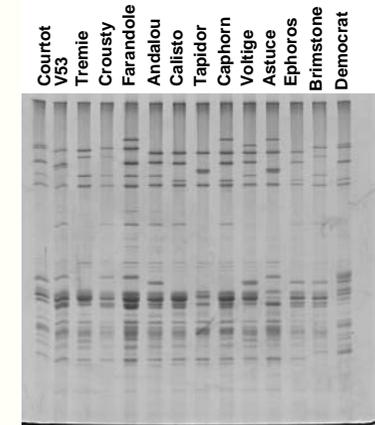
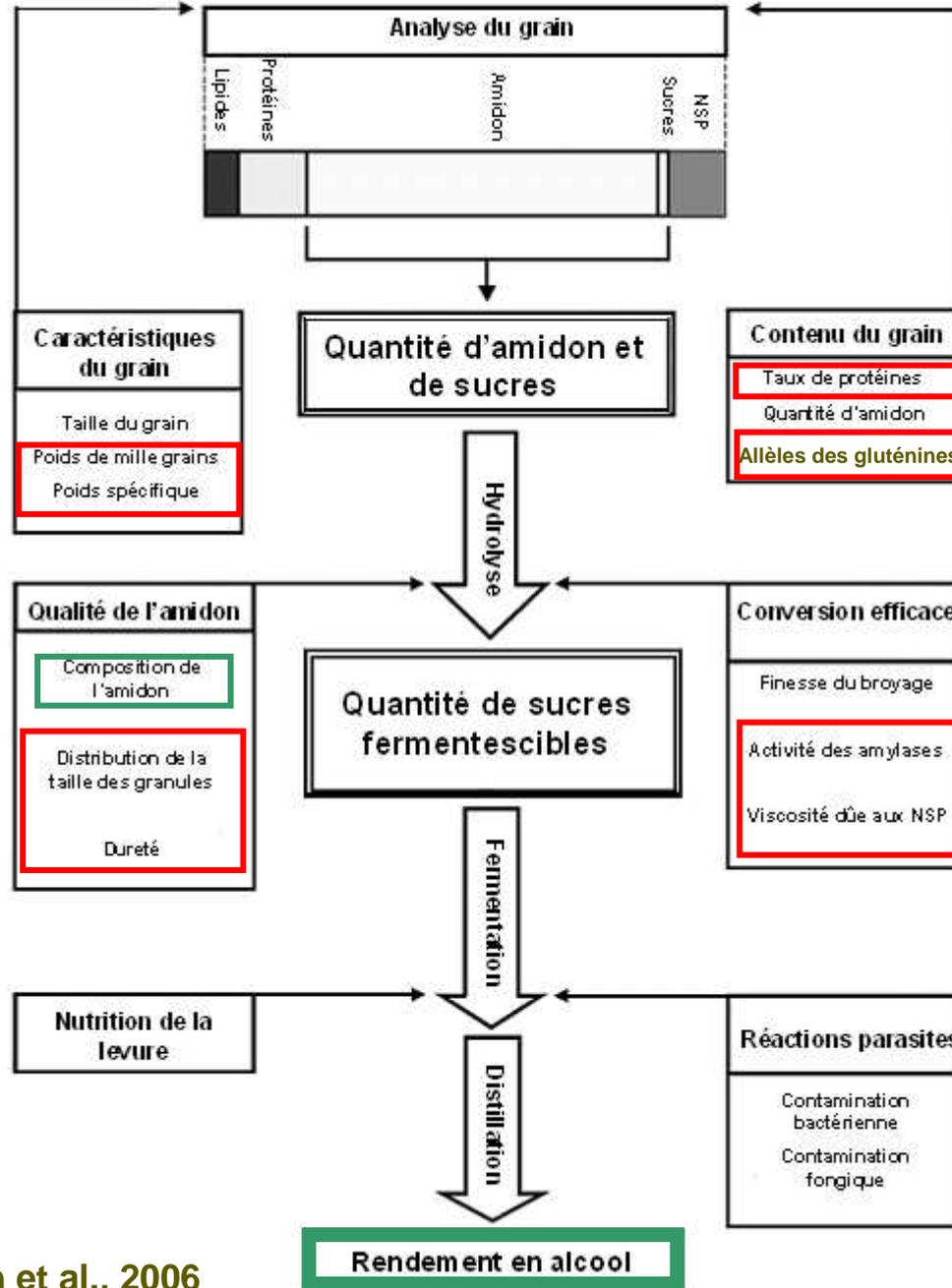
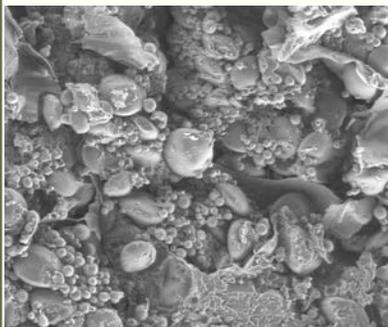
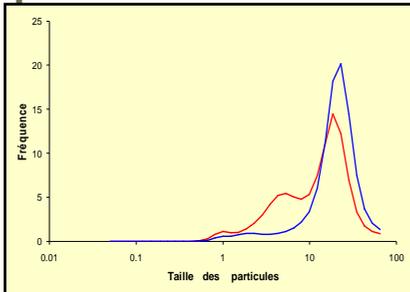
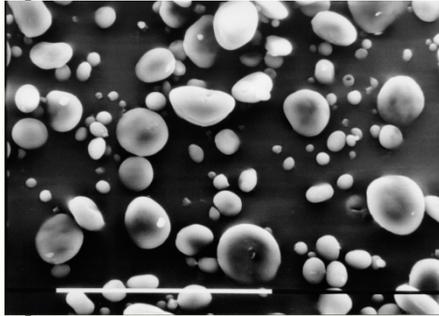
**30 cultivars x 4 Lieux (CAU, Inra, MOH, UNI) x 2 traitements N**

## Année 3

**22 cultivars  
24 L. Isogéniques } x 8 Lieux x 2 traitements N**

Lignées isogéniques BC3 de Crousty Waxy, Soissons Waxy et Trémie Waxy





## Analyse de variance

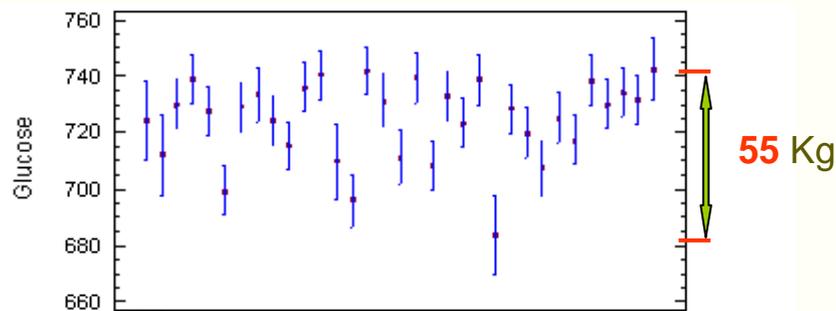
	F Variétés	F Année	F Lieux(Année)	F Trait N	F Var x Trait N	R <sup>2</sup> modèle	H <sup>2</sup>
<i>ddl</i>	32	2	8	1	32		
PMG	44.39***	20.87***	151.53***	1.4 <sup>ns</sup>	0.33 <sup>ns</sup>	82.96	0.18
PS	28.76***	540.13***	164.46***	1.99 <sup>ns</sup>	0.39 <sup>ns</sup>	86.78	0.1
Hagberg	33.27***	36***	43.99***	1.78 <sup>ns</sup>	0.39 <sup>ns</sup>	74.54	0.38
Protéines	11.08***	11.95***	23.73***	73.40***	0.75 <sup>ns</sup>	50.61	0.25
Dureté	113.68***	47.36***	16.71***	10.33**	0.86 <sup>ns</sup>	87.68	0.79
Type A	31.88***	497.31***	2.99**	0.07 <sup>ns</sup>	0.52 <sup>ns</sup>	79.74	0.34
Type B	32.62***	410.13***	3.12**	0.08 <sup>ns</sup>	0.5 <sup>ns</sup>	78.3	0.38
Type C	13.86***	1717.32***	17.24***	0.03 <sup>ns</sup>	0.94 <sup>ns</sup>	89.32	0.07
Visc Pot	127.2***	-	18.8***	5.68***	-	94.1	-
Visc Reelle	13.3***	9.52**	20.89***	3.74 <sup>ns</sup>	0.83 <sup>ns</sup>	61.94	0.46
Rdt Glucose l/t	4***	12.84***	14.74***	0.39 <sup>ns</sup>	1.59* 32	34.19	0.18
Rdt Ethanol l/t	2.04***	30.58 ***	7.85***	11.75***	1.68* 32	26.58	0.07
Rdt t/ha	4.86***	197.45***	114.78***	0.26 <sup>ns</sup>	0.45 <sup>ns</sup> 32	74.26	0.04
Rdt Glucose l/ha	3.91***	19.60***	106.89***	0.23 <sup>ns</sup>	0.54 <sup>ns</sup> 32	65.14	0.06
Rdt Ethanol l/ha	3.61***	11.44***	92.42***	0.31 <sup>ns</sup>	0.56 <sup>ns</sup> 32	61.44	0.06
Amylose	1.87**	-	4.1**	7.67***	-	20.8	-

➤ Effets « Variétés », « Année » et « Lieux » significatifs pour toutes les caractéristiques étudiées.

➤ Effet Traitement N significatif pour les caractères Taux de protéines, Dureté, Viscosité potentielle, Rendement éthanol et taux d'amylose.

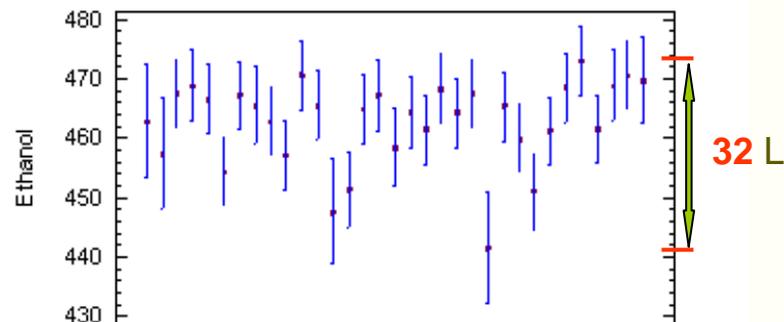
➤ Héritabilité très faible pour les rendements en glucose et éthanol.

## Moyennes des cultivars et des lieux pour le Rdt Glucose Kg/t MS

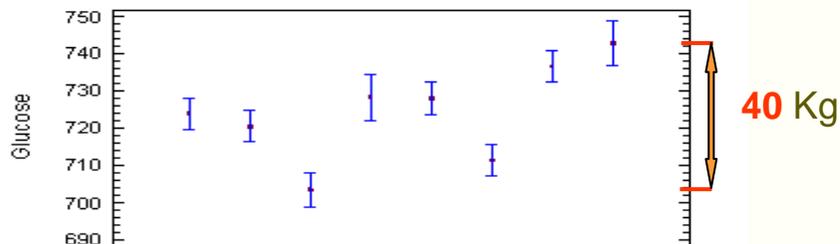


Cultivars

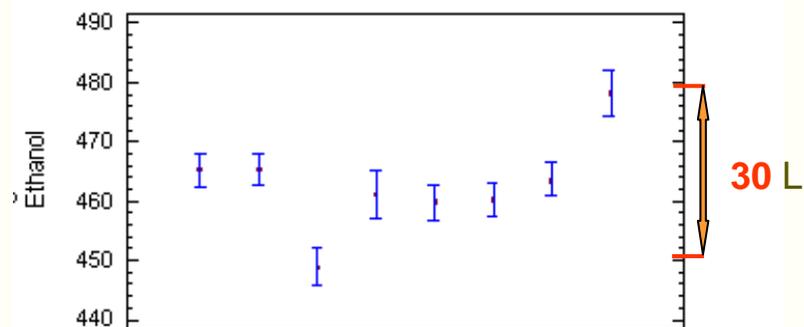
## le Rdt éthanol L/t MS



Cultivars



Lieux

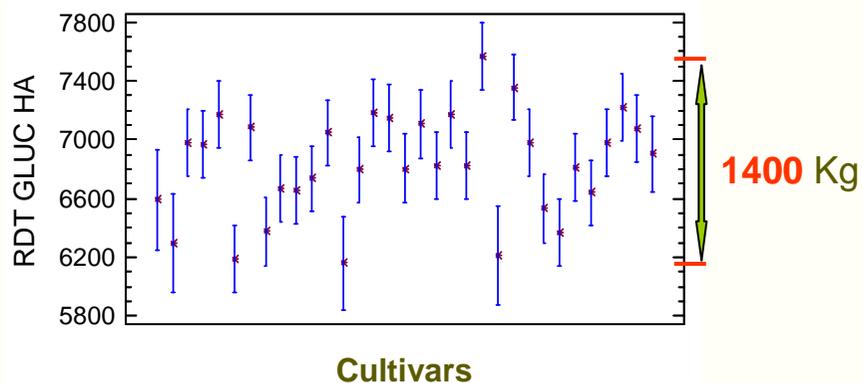


Lieux

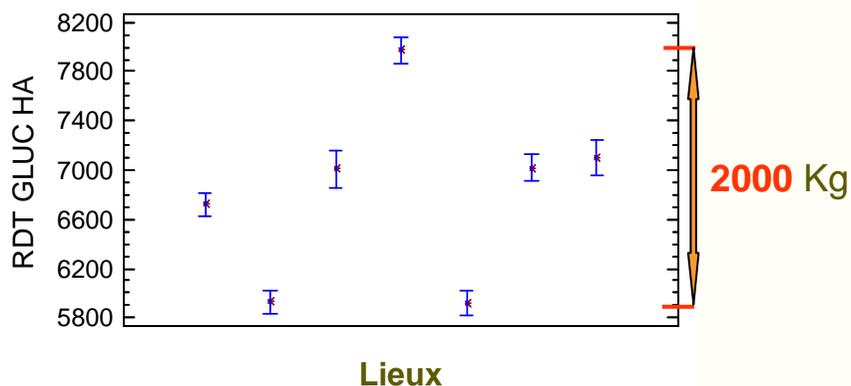
**Référence industrielle: 350 L /t MS**



## Moyennes des cultivars et des lieux pour le Rdt glucose Kg/ha

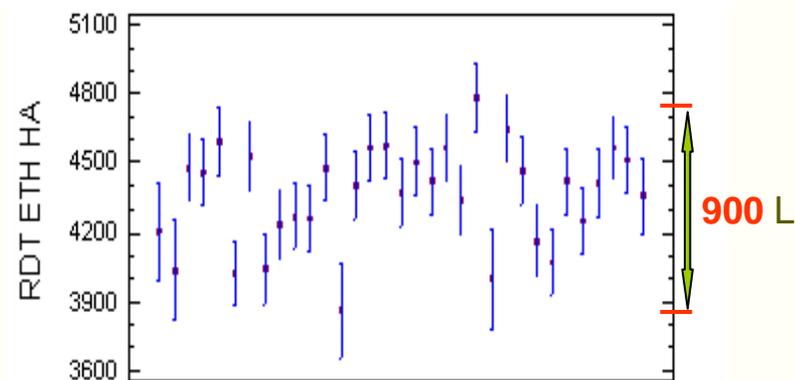


Cultivars

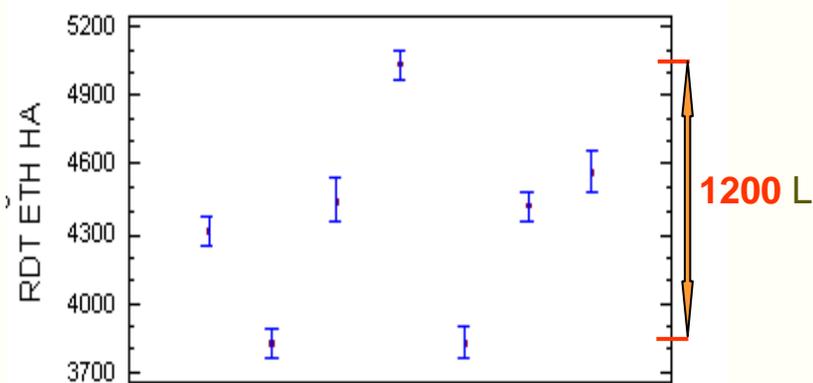


Lieux

## le Rdt éthanol L/ha



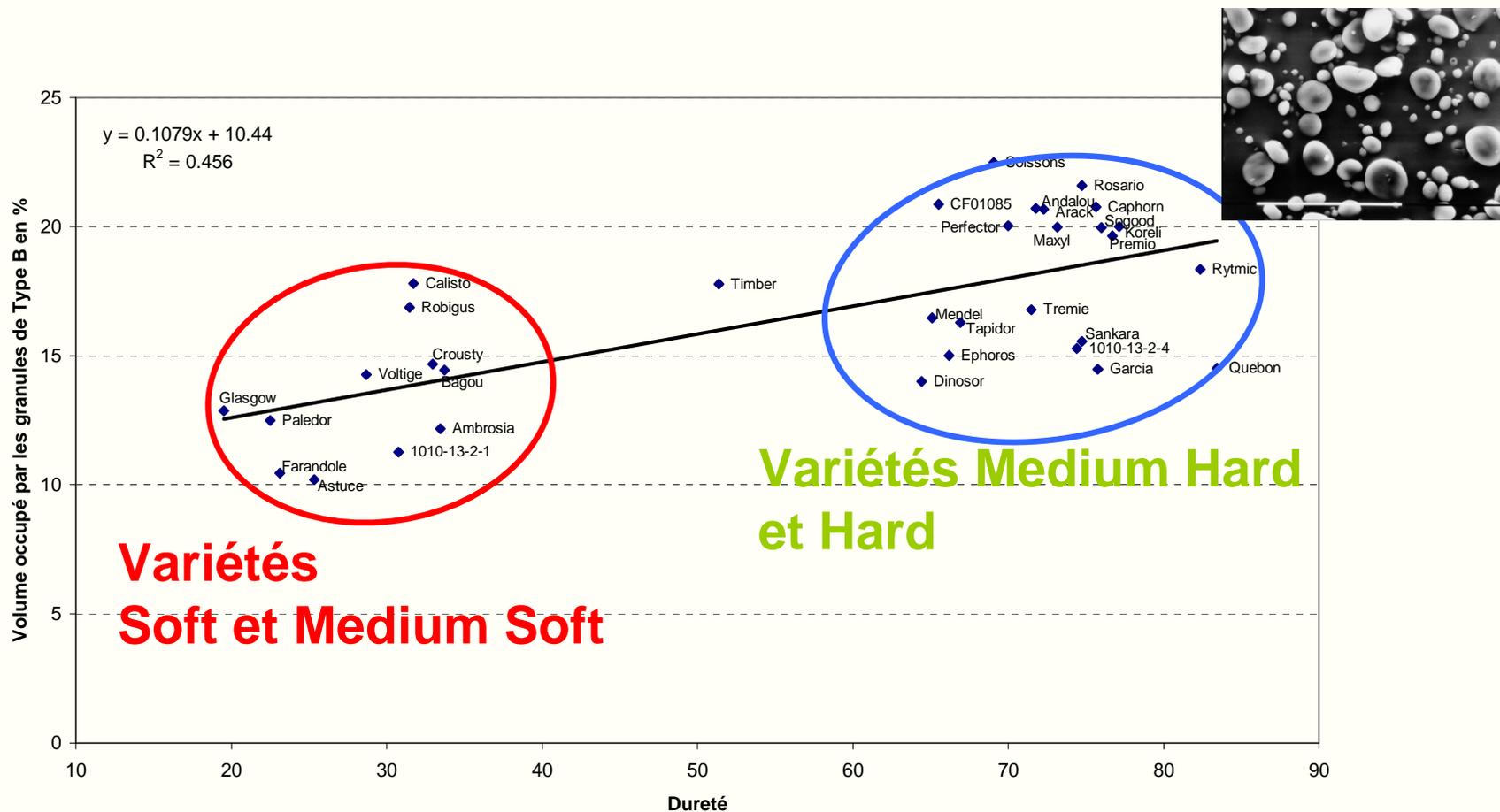
Cultivars



Lieux



## Corrélation entre la dureté et la distribution de la taille des granules d'amidon



**Le volume des granules de B et C est corrélé positivement à la dureté.**



## Quelques autres résultats

**On confirme que les rendements en glucose et en éthanol sont négativement influencés par la teneur en protéines**

**Le rendement en éthanol est positivement corrélé au rendement en glucose**

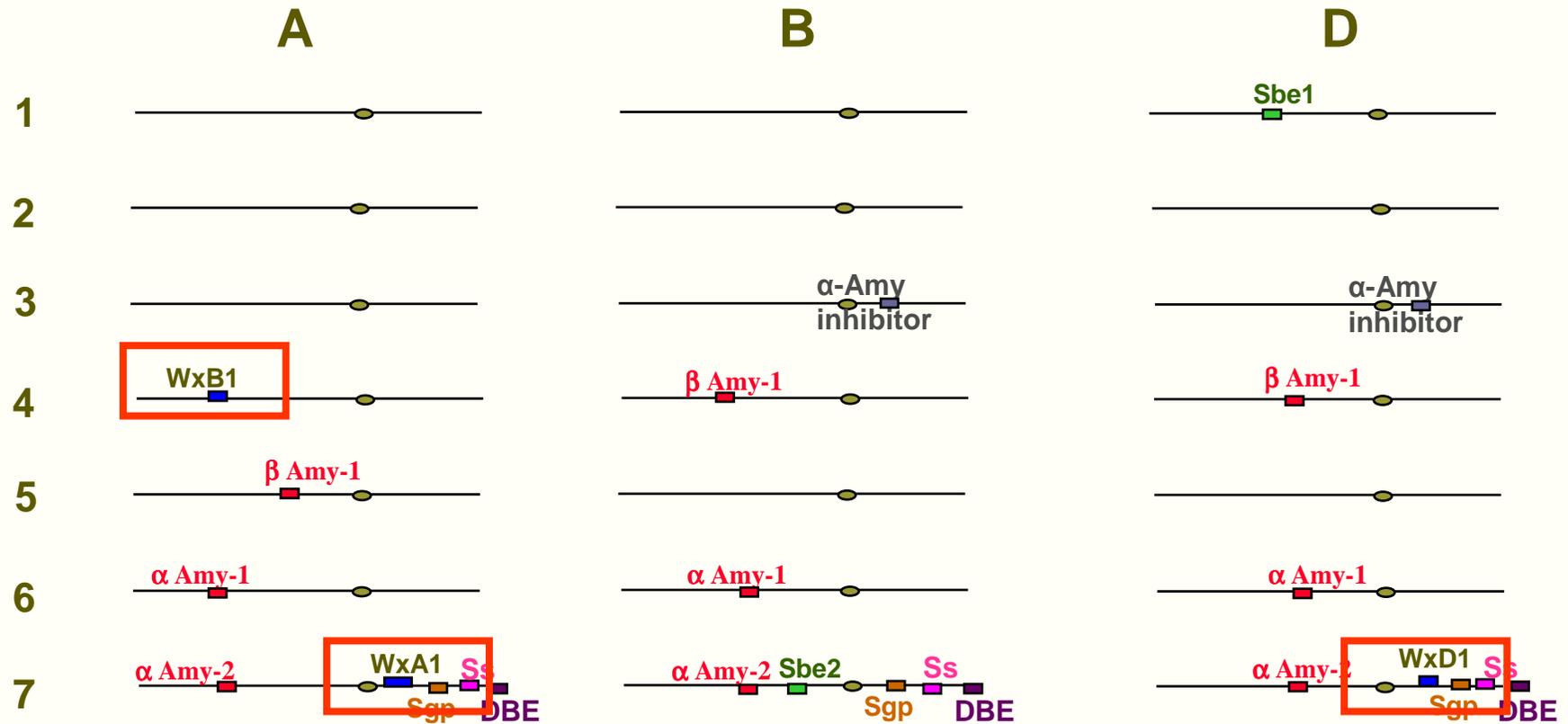
**Le rendement en amidon n'est pas suffisant pour expliquer le rendement en éthanol**

**Plusieurs caractéristiques génétiques du grain ont été associées aux variations de rendement en glucose et / ou en éthanol**

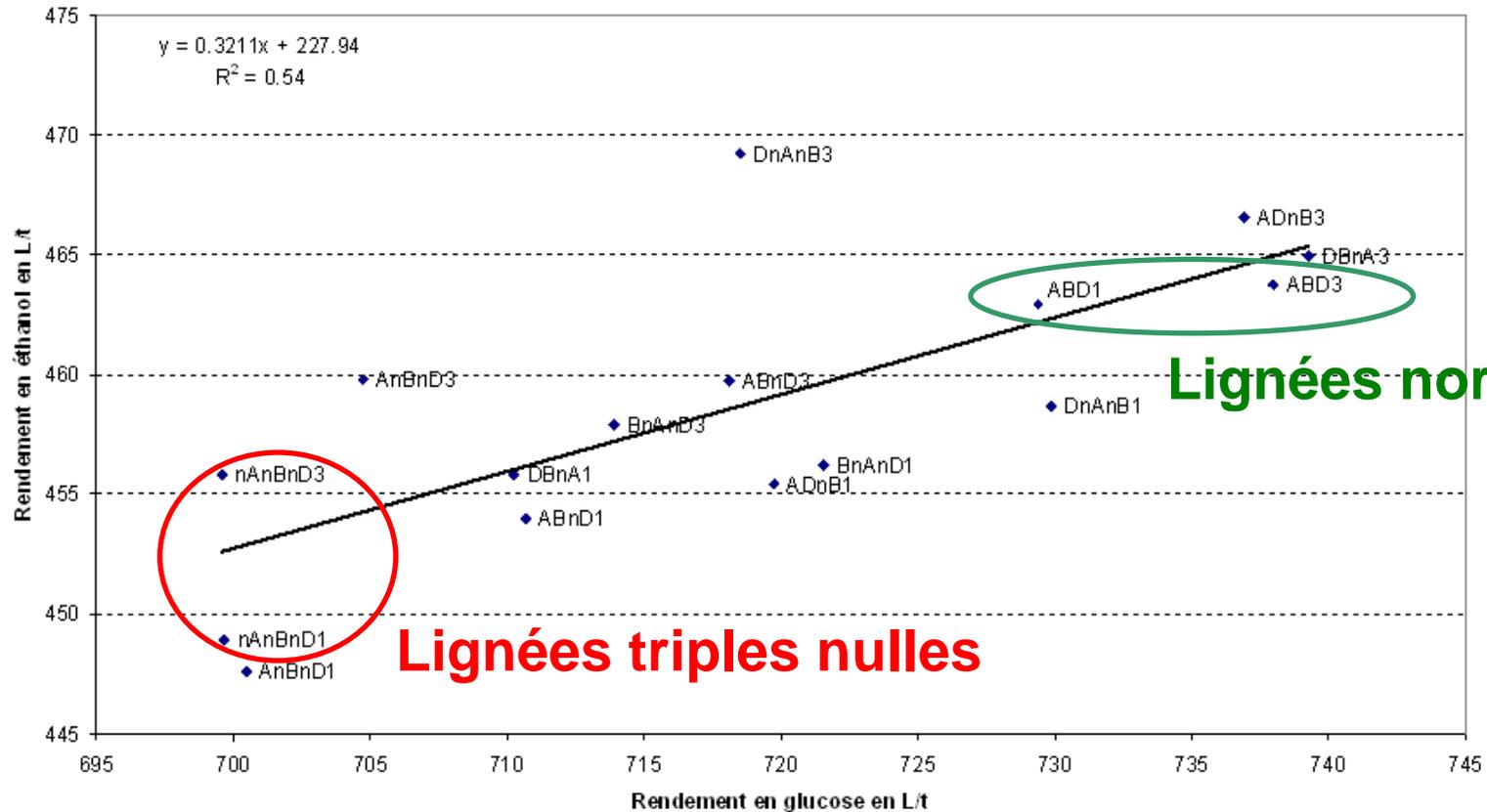
**En dehors de l'alimentation azotée, des facteurs du milieu influencent le rendement en éthanol. (Ces facteurs sont à préciser: température, stress hydrique..... )**



## Rappel: Principaux loci impliqués dans la synthèse de l'amidon



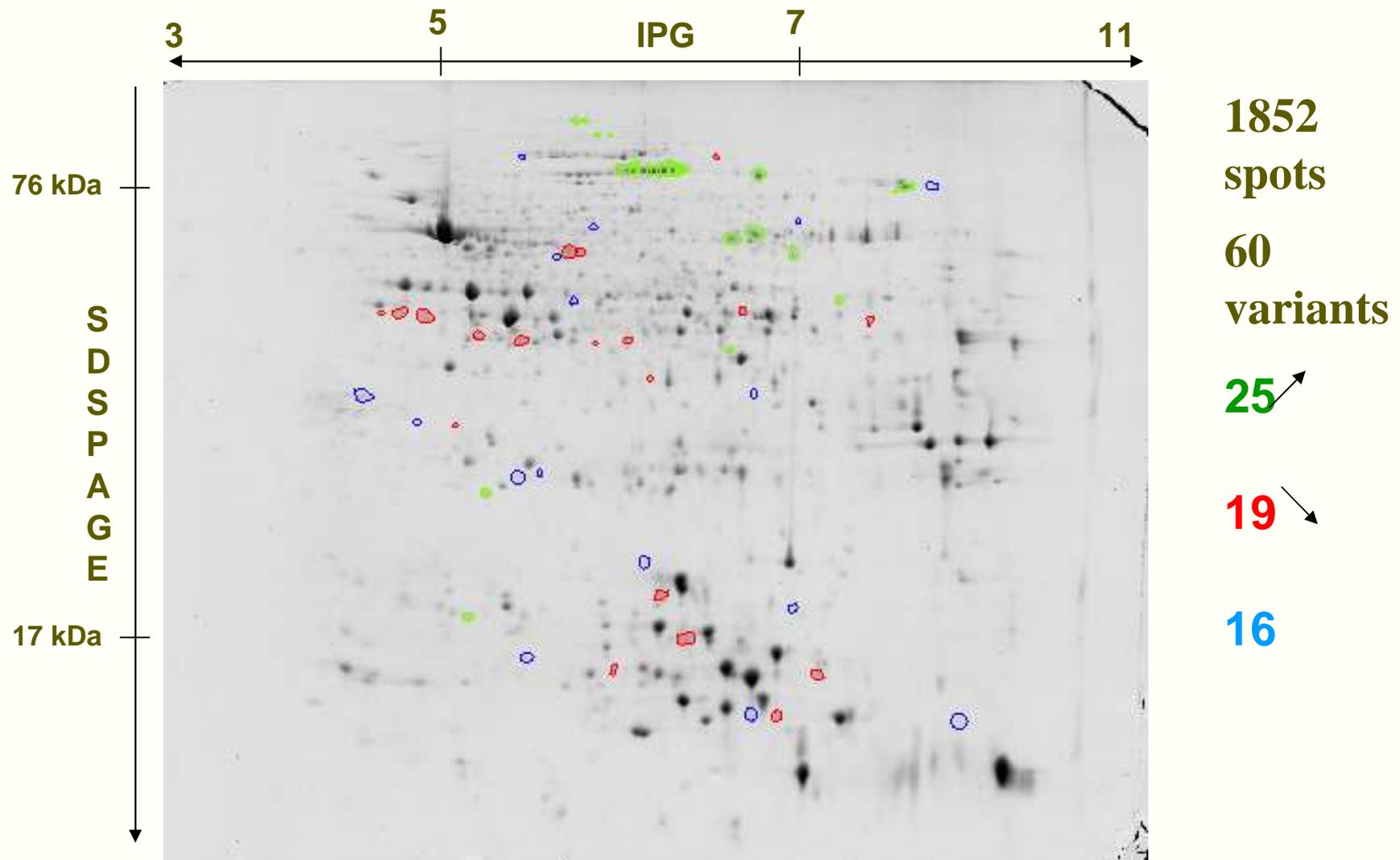
## Corrélations entre les rendements en glucose et éthanol sur les moyennes des formes isogéniques par traitement



➤ Les lignées isogéniques totalement dépourvues d'amylose présentent des Rdt éthanol plus faibles que ceux des lignées normales.



## Albumines et globulines de la forme Waxy nulB de Trémie



### Synthèse des résultats sur les variations quantitatives et l'identification des spots protéiques

**L'analyse protéomique** révèle:

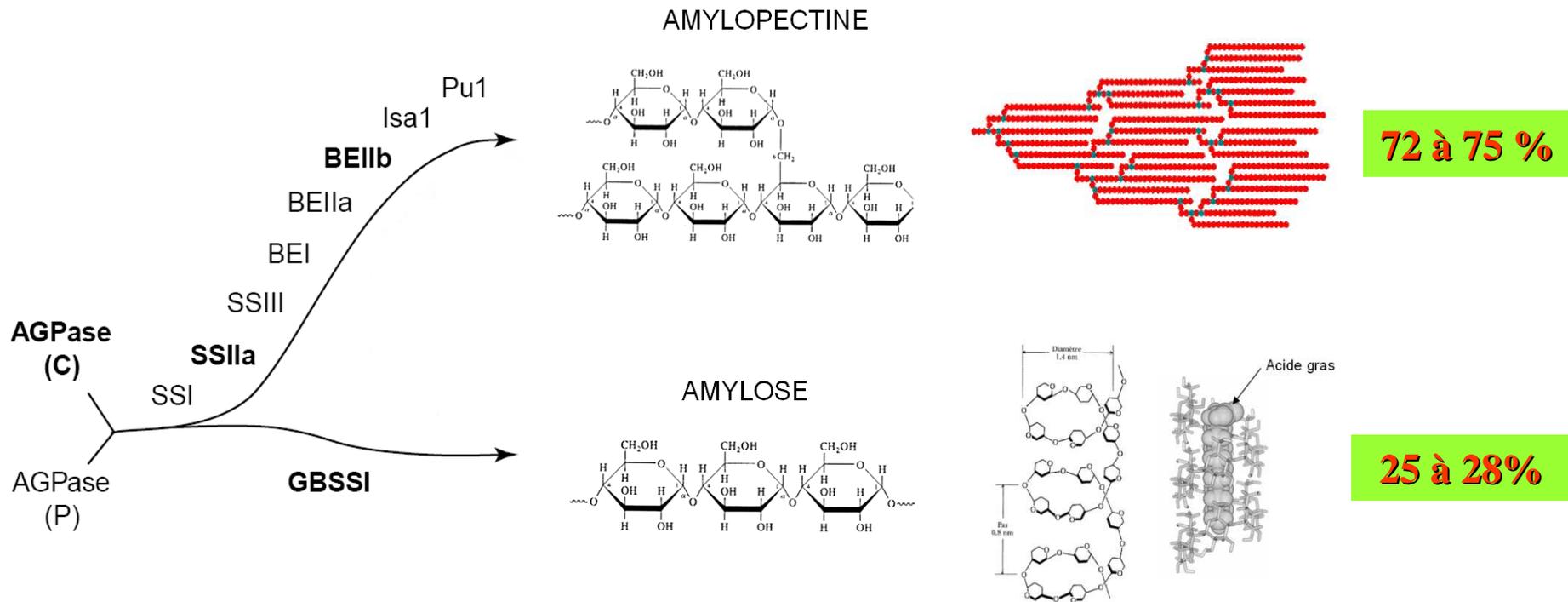
Augmentation de l'expression des sucrose synthases

Diminution de l'expression de l'AGPase

Diminution des serpinés et d'HSP



## Rappel: L'amidon est composé de deux types de polymères



## Synthèse des résultats sur les variations quantitatives et l'identification des spots protéiques

### L'analyse protéomique révèle :

Augmentation de l'expression des sucrose synthases

Diminution de l'expression de l'AGPase

Diminution des serpinines et d'HSP

### Les analyses biochimiques montrent :

Augmentation de l'activité des sucrose synthases chez la lignée triple nulle.

Diminution

-de la quantité d'amidon chez la lignée triple nulle

- de la taille moyenne des granules d'amidon

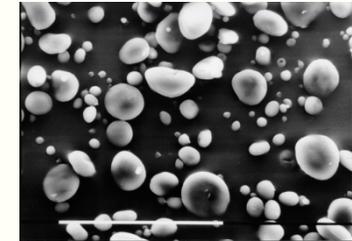
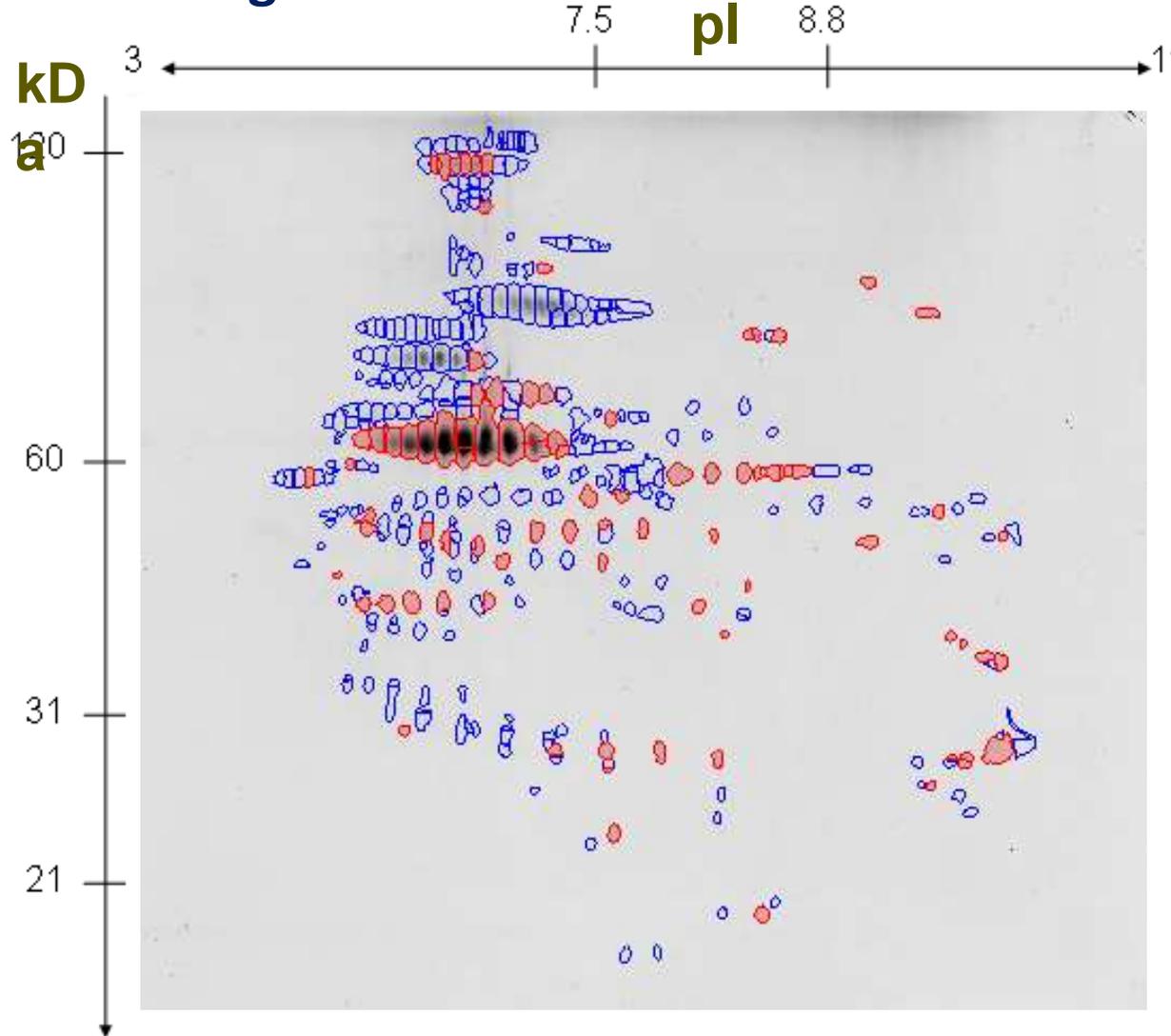


Diminution du PMG 3,6% chez Trémie waxy

➤ Développement incomplet de l'albumen des grains de blé waxy par rapport aux grains normaux.

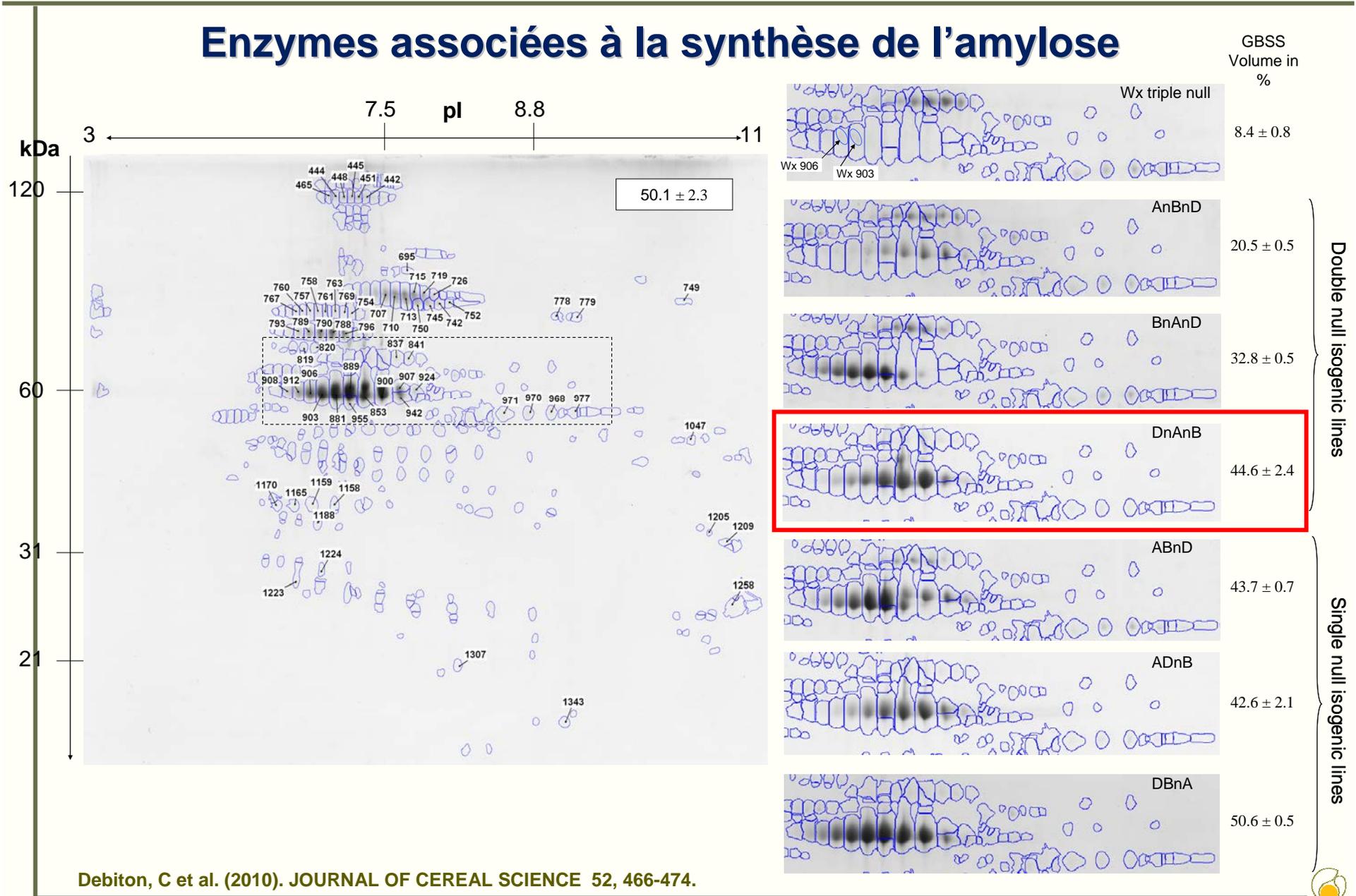


## Protéome des granules d'amidon de la forme normale de Trémie

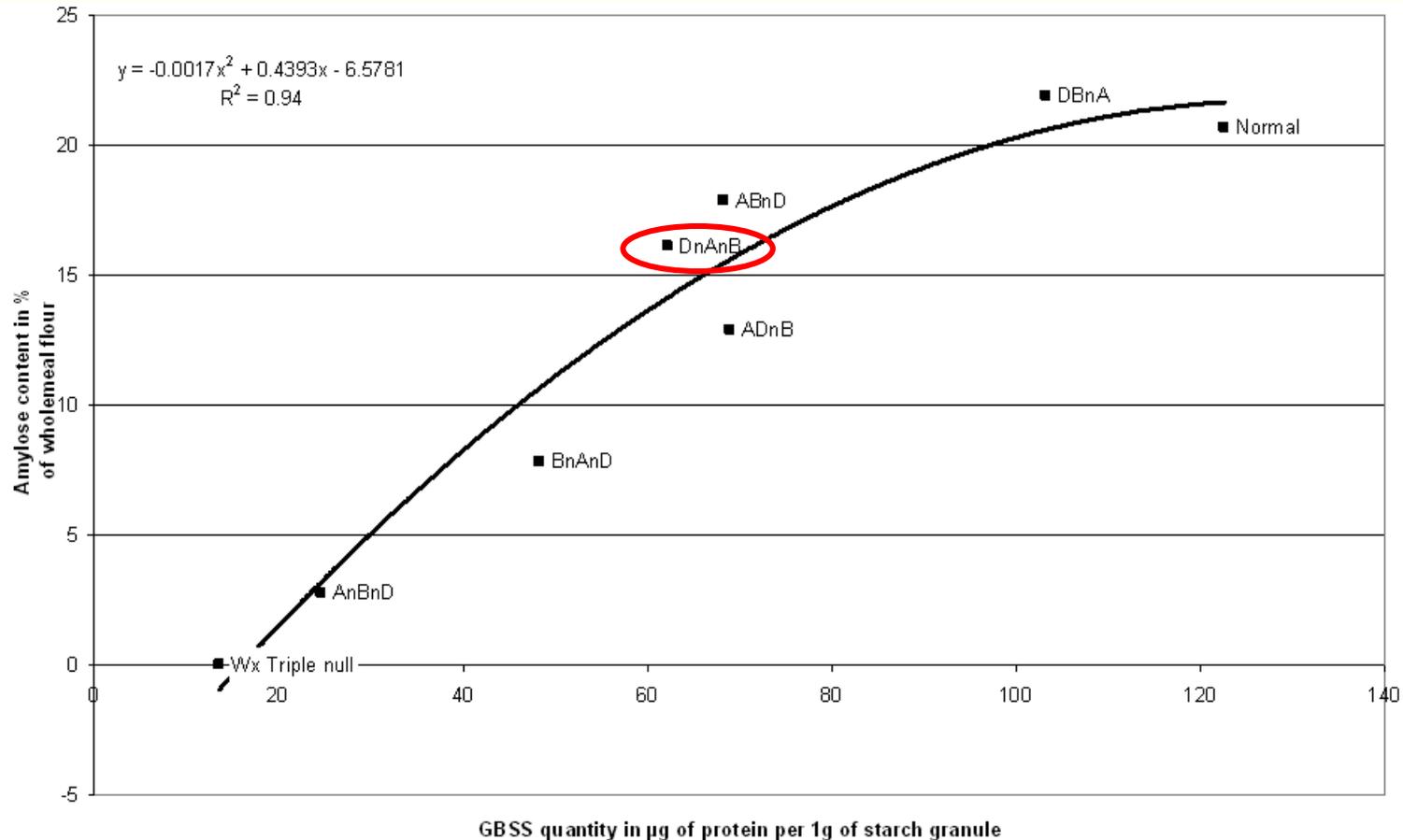


**352**  
spots  
**86**  
variants

## Enzymes associées à la synthèse de l'amylose



## Relation entre la quantité d'amylose et la quantité de GBSS



- La quantité d'amylose est directement dépendante de la quantité des GBSS.
- Un plateau semble atteint, indiquant une régulation de l'activité des GBSS.
- L'allèle *Wx-D1a* seul, aboutit à la même production d'amylose que les lignées possédant deux allèles fonctionnels.

- 1- Un protocole de laboratoire (incluant saccharification et fermentation) a été mis au point permettant d'évaluer les potentialités génétiques des blés pour le rendement en glucose et sa transformation en éthanol
- 2- Bien que les cultivars expérimentés aient été relativement adaptés à cette transformation, la variabilité génétique à exploiter dans l'espèce blé est vraisemblablement supérieure à celle qui fut mise en évidence (éthanol : 32 L /t MS, 900 L/ha)
- 3- Plusieurs caractéristiques génétiques du grain ont été associées au rendement en glucose et / ou en éthanol. Elles permettent de définir un idéotype pour sélectionner un blé destiné à cet usage.
- 4- On peut affirmer que le blé adapté à cette transformation n'est ni un blé panifiable, ni semblable aux blés actuels impanifiables.
- 5- Les blés waxy testés n'apportent pas une réponse directement adaptée à cet usage. Mais la génétique de la composition de l'amidon et de ses usages n'en est qu'à ses débuts chez le blé.
- 6- Les effets dus au milieu de culture sont apparus au moins aussi importants que les effets génétiques. Les facteurs agronomiques favorables aux rendements élevés en glucose et éthanol sont à approfondir.



### **INRA Clermont Ferrand**

Clément Debiton, Thèse CIFRE  
François Xavier Oury,  
Annie Faye  
François Balfourier  
René Saccomano†

### **Institut Polytechnique LaSalle Beauvais**

Pascale Gadonna  
Larbi Rhazi  
David Marier  
Thierry Aussenac

### **GNIS –FSOV**

Christine Amaury  
Xavier Martin  
Philippe Roux

### **CETAC**

S. Dutriez, CAUSSADE semences;  
J.M. Delhaye, LEMAIRE Deffontaines ;  
S. Sunderwirth, MOMONT et fils ;  
C. Michelet, R2N ;  
V. Lein, SAATEN Union Recherche;  
P. Giraudeau, SECOBRA Recherche ;  
P. Lerebour, UNISIGMA



**Merci**

