



PROSIT – FSOV 2018C

Qualification des protéines d'intérêt de l'orge pour la qualité technologique du malt

JULIEN BILLARD / IFBM



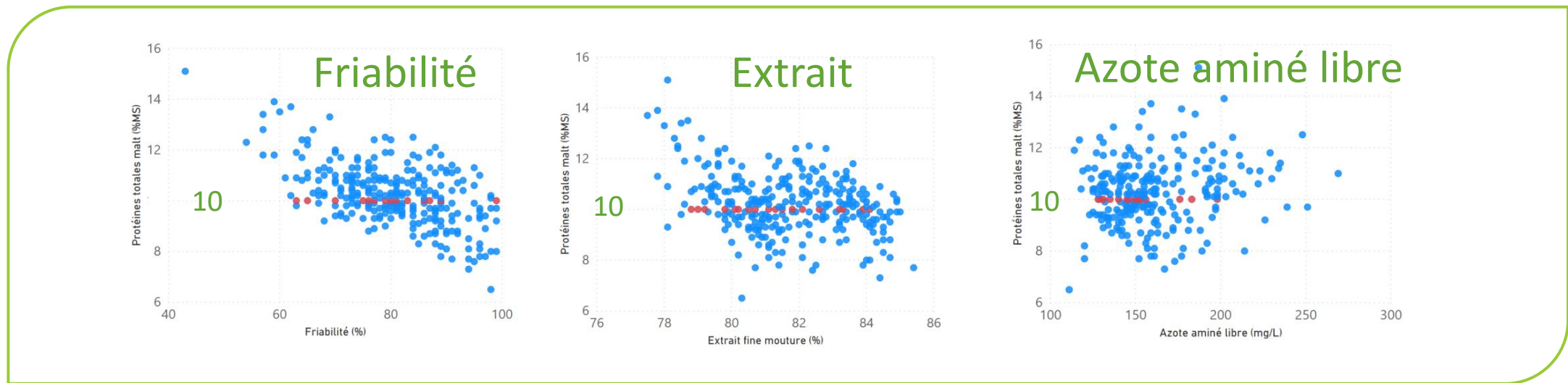
Contexte

- Spécification orge de brasserie entre **9,5 et 11,5%** pour la teneur en protéines totales
- Peu d'informations sur la qualité des protéines (composition)
- Dynamique de **baisse des intrants** :
 - => Produits de protection des plantes ou de fertilisation
- Dynamique actuelle de **baisse des protéines** par augmentation du potentiel de rendement
 - => Dilution des protéines



Contexte

- Les protéines sont un marqueur de la **qualité globale** du malt
- Cahier des charges malteurs qui **normalise** la teneur en protéines entre **9,5 et 11,5**
 - Pour éviter les soucis technologiques => prise d'eau, filtration, nutrition levure, mousse
- Le teneur en protéines totales n'est **pas assez informative** pour qualifier une potentielle qualité de malt



Identifier de nouveaux leviers de qualification



Problématique

COMMENT garder des orges qui répondront demain aux besoins de la filière avec des teneurs en protéines basses ?

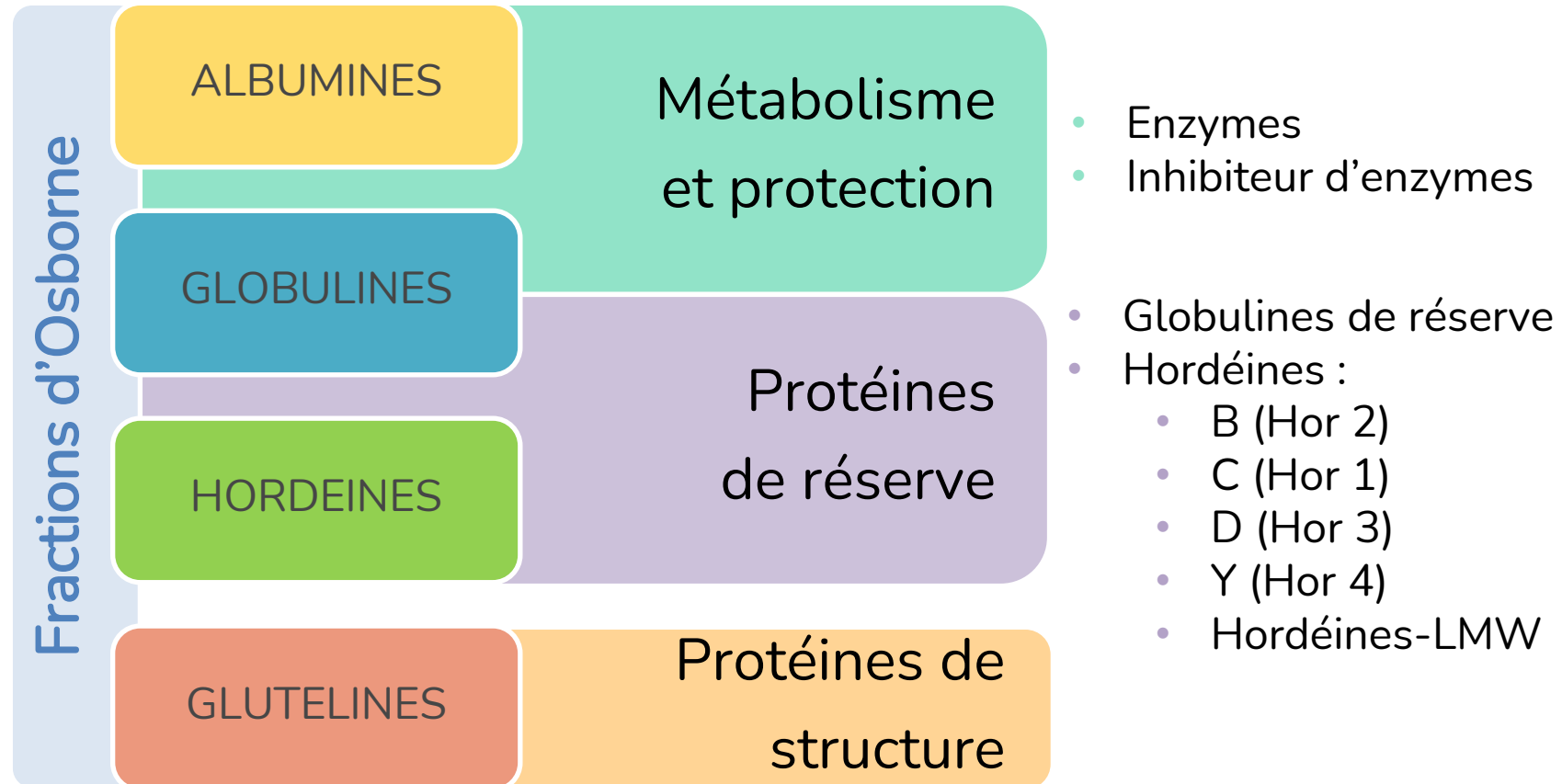
⇒ Quels sont les protéines en lien avec la qualité brassicole ?

⇒ Outil pour affiner la sélection des variétés ?



Contexte

Les protéines de l'orge et du malt



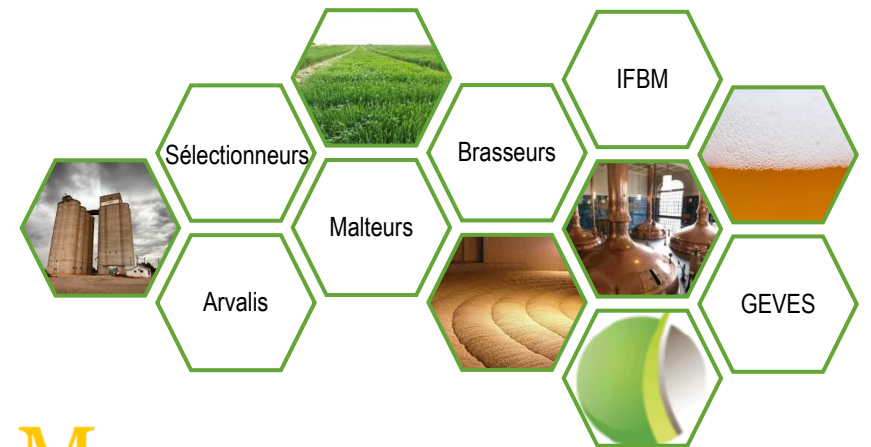
Comment cette diversité de protéines peut impacter la qualité du malt ?

Présentation du projet

PROJET FSOV 2018 C-PROSIT

Partenaires :

- IFBM – porteur du projet
- Malteurs de France & Brasseurs de France
- UFS & sélectionneurs : Breun France / Florimond-Desprez / KWS Momont / Limagrain / RAGT 2n / Secobra / Syngenta / Unisigma
- GEVES
- ARVALIS

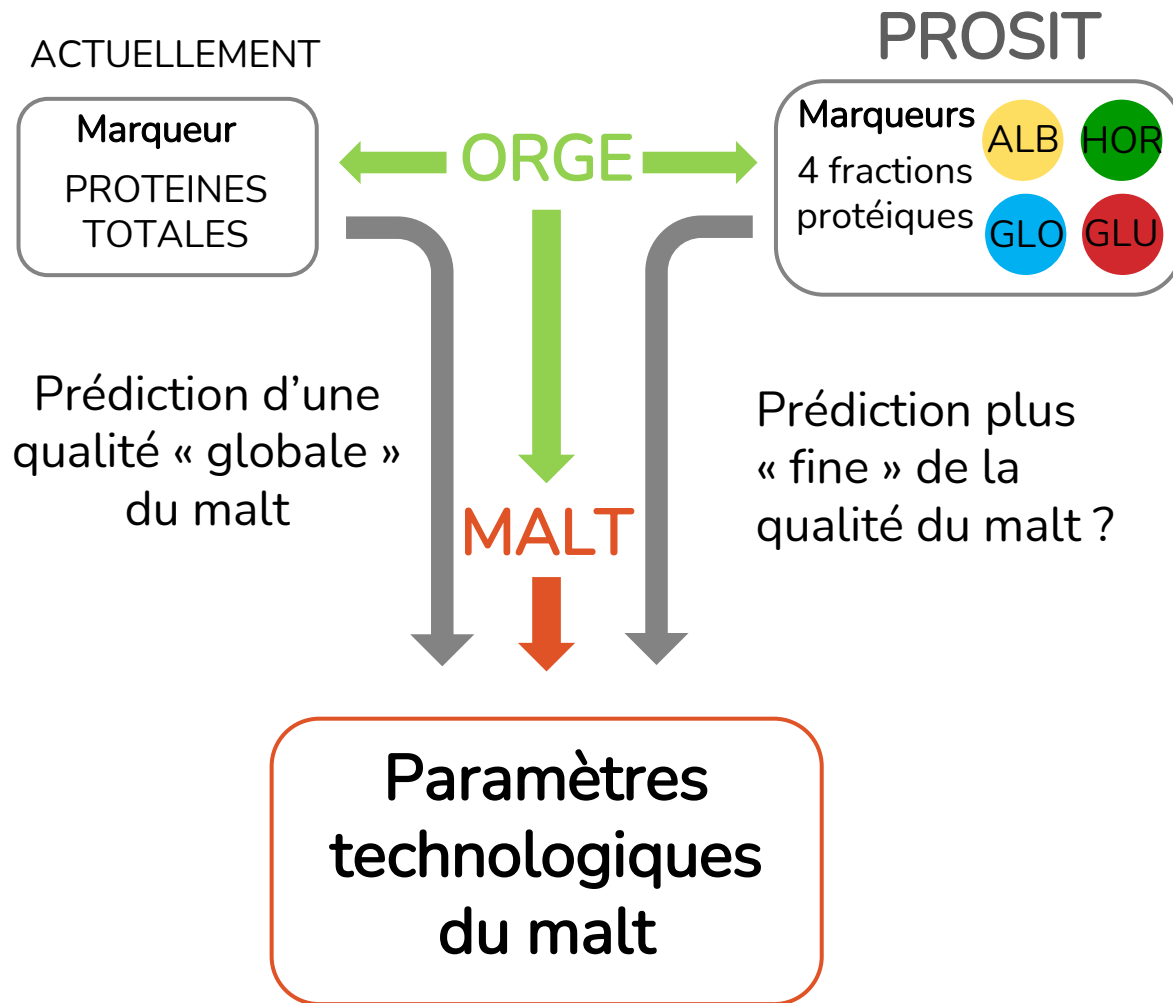


Financement :

- FSOV : 70%
- Fondation de la Malterie et de la Brasserie



Objectifs et livrables



Objectif principal

Améliorer les connaissances sur les protéines de l'orge

Objectif industriel

Avoir une meilleure maîtrise de la qualité brassicole

Livrables

- Dresser une cartographie qualitative des protéines de l'orge
- Mettre en lumière des relations entre qualité du malt et profil protéique des orges
- Permettre aux sélectionneurs d'orienter leurs travaux
- Identifier des leviers de "pilotage" de la qualité protéique ?



Deux grandes questions du projet

Q1 : Peut-on identifier des facteurs agronomiques pour piloter le profil protéique **ORGE** ?

Q2 : Peut-on prédire les paramètres **MALT** avec le profil protéique **ORGE** ?



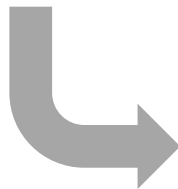
Structure du projet

Echantillons du projet

Tâche 1

DÉVELOPPEMENT
DE LA MÉTHODE
D'ANALYSE

EXTRACTION
&
ANALYSE DES
PROTÉINES



Tâche 2

Tâche 3

Travail avec les sélectionneurs

Tâche 2 : Essais déjà disponibles (variété, fertilisation...)

Tâche 3 : Dispositif expérimental robuste inclus dans le projet (descripteur agronomique)

CREATION BASE DE DONNEES

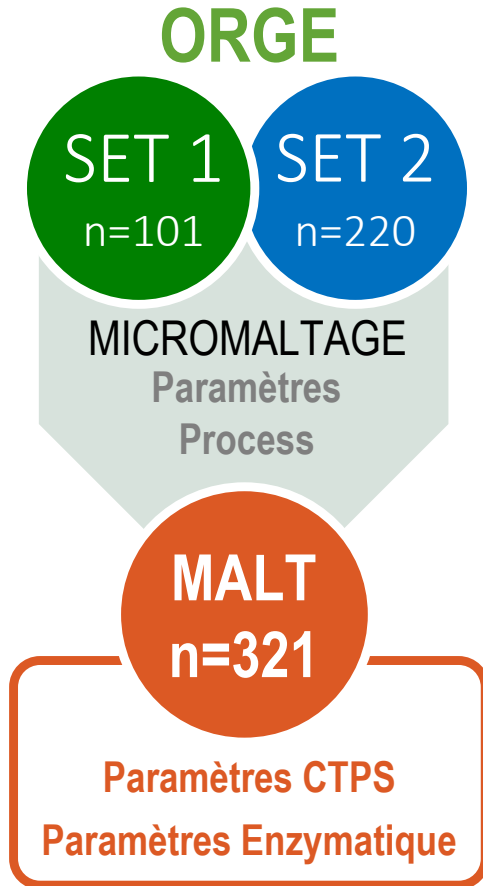
Tâche 4

Validation
des
hypothèses
émises en
tâche 2 & 3



Tache 2 et Tache 3 : Echantillonnage

T2 : Echantillons déjà produits (hors projet)
=> mise au point de la méthode



T3 : Echantillons produits pendant le projet avec des paramètres agronomiques fixés



PARAMÈTRES MALT

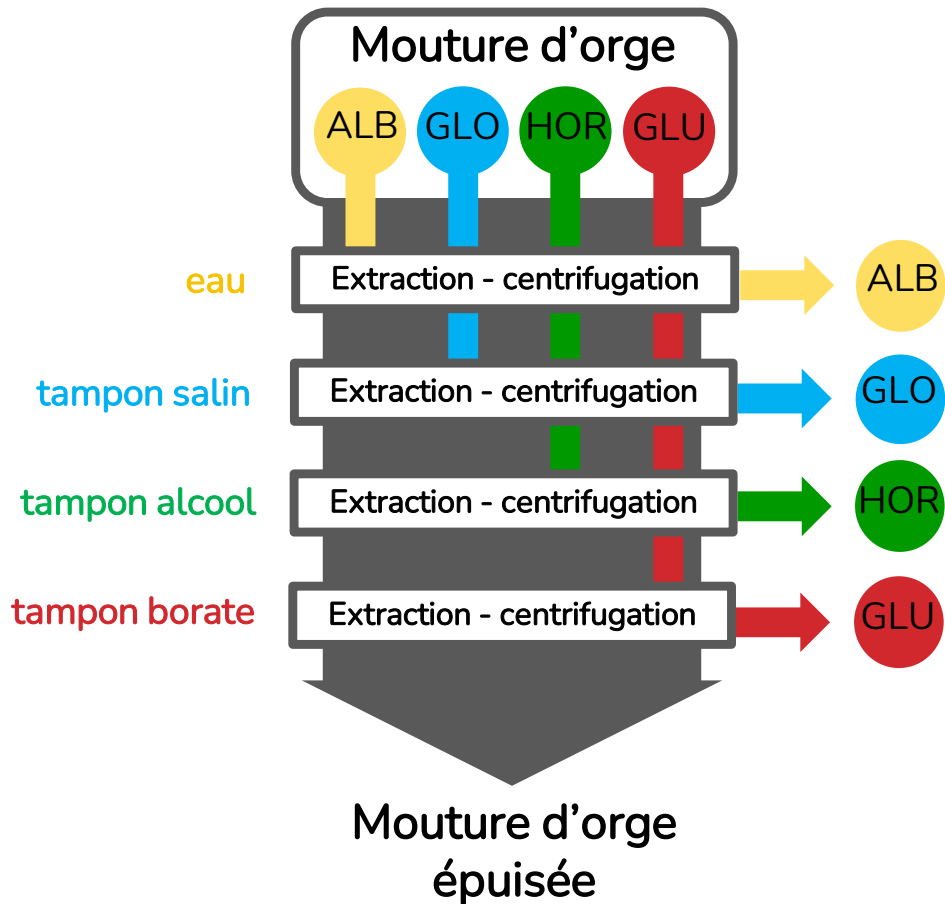
MALT

- Friabilité (FRIA)
- Viscosité (VIS)
- Azote aminé libre (FAN)
- Protéines totales malt (PTM)
- Protéines solubles malt (PSM)
- Indice Kolbach (IK)
- Extrait fine mouture (EFM)
- Bêta glucanes solubles (BGL)
- Pouvoir diastasique (PD)
- Atténuation (ATT)
- Humidité fin de trempage (HFT)
- Humidité fin de germination (HFG)
- Activité enzymatique (AAM, BAM, LD)



Tâche 1 : Extraction & analyse des protéines

Extraction séquentielle



Analyse des protéines

METHODE



ELECTROPHORÈSE CAPILLAIRE

Electrophorèse micro-fluidique
Séparation selon le poids moléculaire (MW)

- Qualitatif and Quantitatif
 - Détection par fluorescence
 - Analyse rapide (60s / fraction protéique)
 - Criblage important (microplaque 96 or 384 puits)
 - Compatibles avec les solvants d'extraction
- Albumine
 - Globuline
 - Hordéine
 - Glutéline

Application à un premier set d'orge pour tester la méthode d'analyse (Tâche 2)

Paramètres ORGE

Criblage des échantillons pour isoler les différents pics des fractions protéiques (tâche 3)

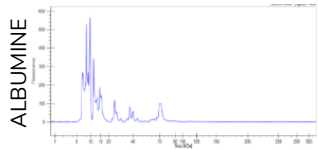


Création de la base de données PROSIT

Paramètres ORGE

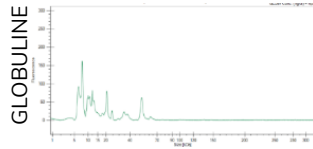
Fractions protéiques

ALB



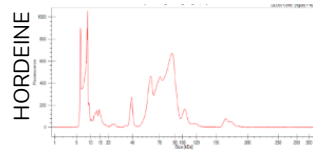
18 pics

GLO



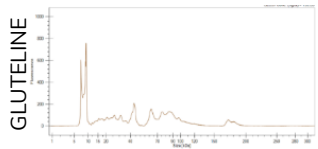
10 pics

HOR



10 pics

GLU



15 pics

315 échantillons
16 748 pics isolés

Paramètres MALT

Qualité technologique

- Friabilité
- Viscosité
- Protéines totales
- Protéines solubles
- Indice Kolbach
- Extrait fine mouture
- Bêtaglucanes solubles
- Pouvoir diastasique

- Humidité fin de trempe
- Humidité fin de germination

≈ 3000 données malts

Descripteurs agronomiques

ESPÈCE

VARIÉTÉ

FERTILISATION

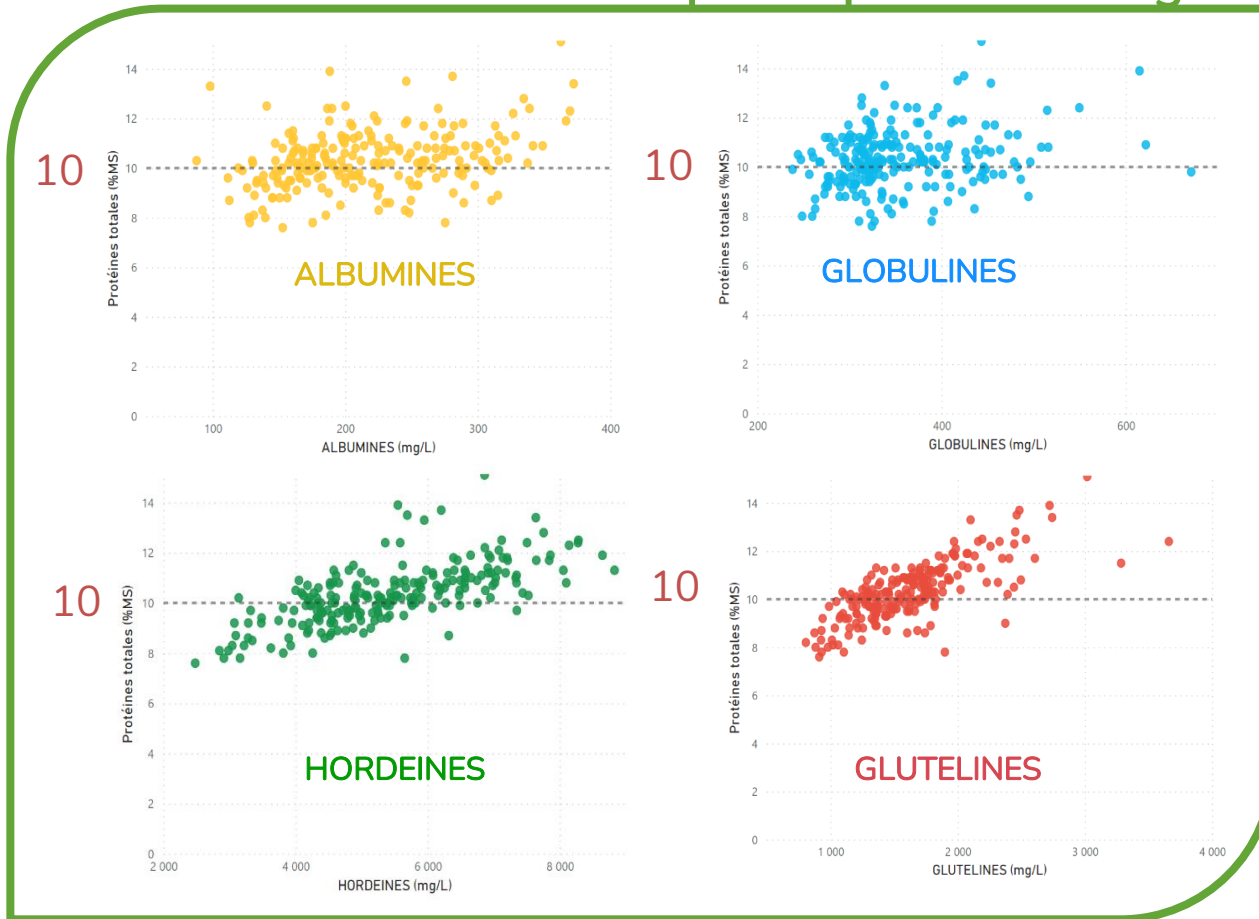
LIEU DE CULTURE

RECOLTE



Premiers résultats

Evolution des fractions protéiques dans l'orge



Dispersion des **ALB**
& **GLO**



Confirmation
de l'intérêt du
projet

HOR & **GLU** sont
plus corrélés
avec la teneur en
protéine totale

Quelle est l'effet sur la qualité
brassicole ?



Questions du projet

Q1 : Peut-on identifier des facteurs agronomiques pour piloter le profil protéique **ORGE** ?

Mise en place d'essais agronomiques avec les sélectionneurs

Q2 : Peut-on prédire les paramètres **MALT** avec le profil protéique **ORGE** ? => identification de marqueurs protéiques



Q1. Description des essais

1^{ère} année (2019)

1

Seules les OH ont été semées

Orges d'hiver

- 10 lieux => 3 lieux
- 5 variétés OH => 4 variétés
- 5 modalités de fertilisation

2^{ème} année (2020)

2

Orges d'hiver

- 10 lieux => 3 lieux
- 5 variétés d'OH => 4 variétés
- 5 modalités de fertilisation

Orges de printemps

- 8 lieux => 3 lieux
- 5 variétés d'OP => 4 variétés
- 5 modalités de fertilisation

3^{ème} année (2021)

3

Seules les OP ont été semées

Orges de printemps

- 5 lieux => 2 lieux
- 5 variétés d'OP => 4 variétés
- 5 modalités de fertilisation



Sélection / Micro-maltage / Quantification / Analyse statistique



Q1. Modalités de fertilisation

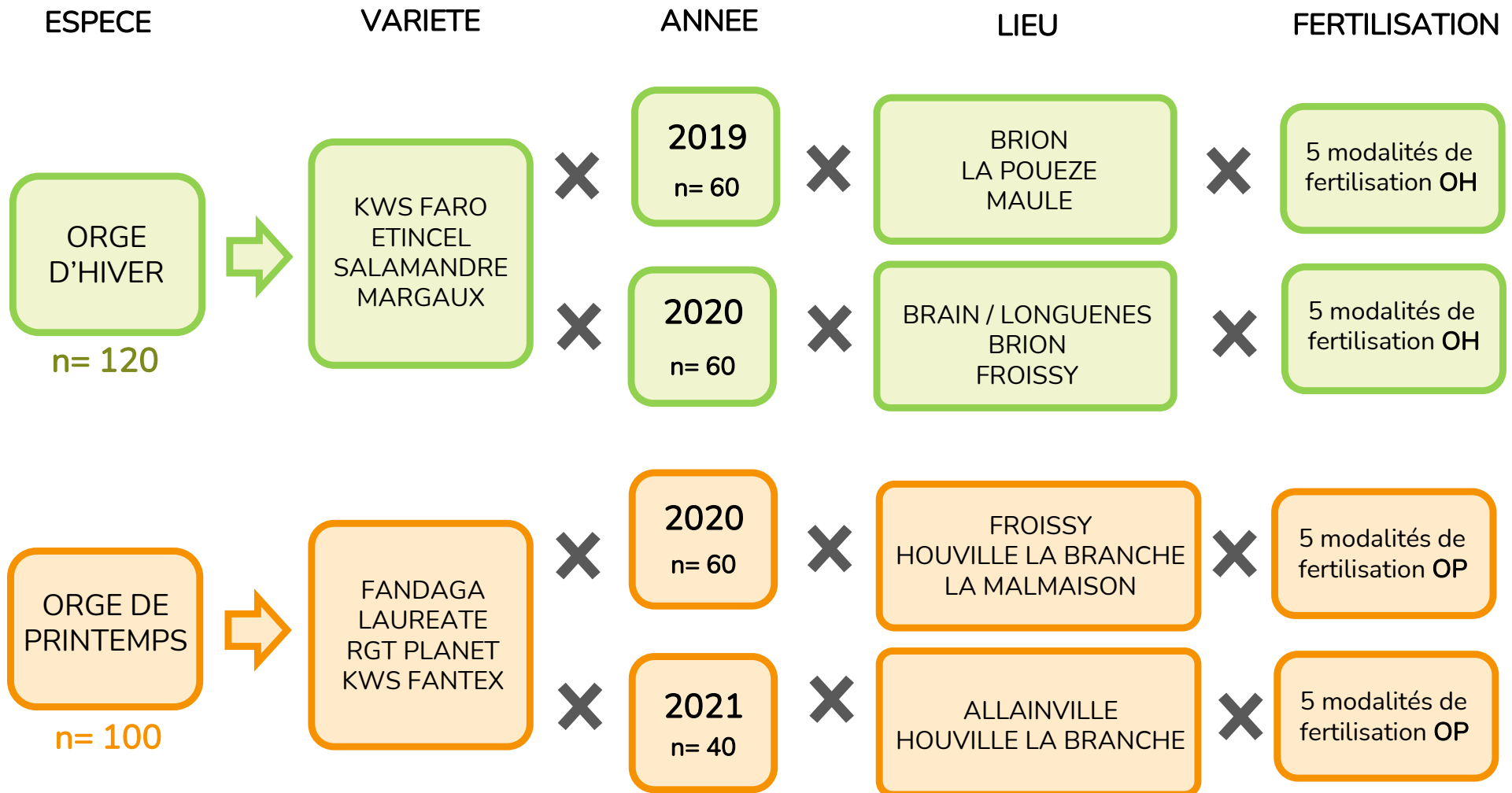
	MODALITÉS	T1	T2	T3	T4	T5
ORGE D'HIVER	Dose d'azote (kg N/ha)	X	X	X	X + 30 %	X – 30 %
	Tallage (Z21)	1/3	2/3	0	1/3	1/3
	Epi 1 cm (Z30)	2/3	1/3	2/3	1/3	2/3
	Dernière feuille			1/3	1/3	

	MODALITÉS	T1	T2	T3	T4	T5
ORGE DE PRINTEMPS	Dose d'azote (kg N/ha)	X	X	X	X + 30	X – 30
	Au semis	X		X/2	X/2	(X-30) / 2
	Début du tallage		X	X/2	X/2	(X-30) / 2
	Epi 1 cm				+ 30 U N	

Fertilisation plus basée sur la date d'apport que sur une « extrémisation » de la dose d'azote

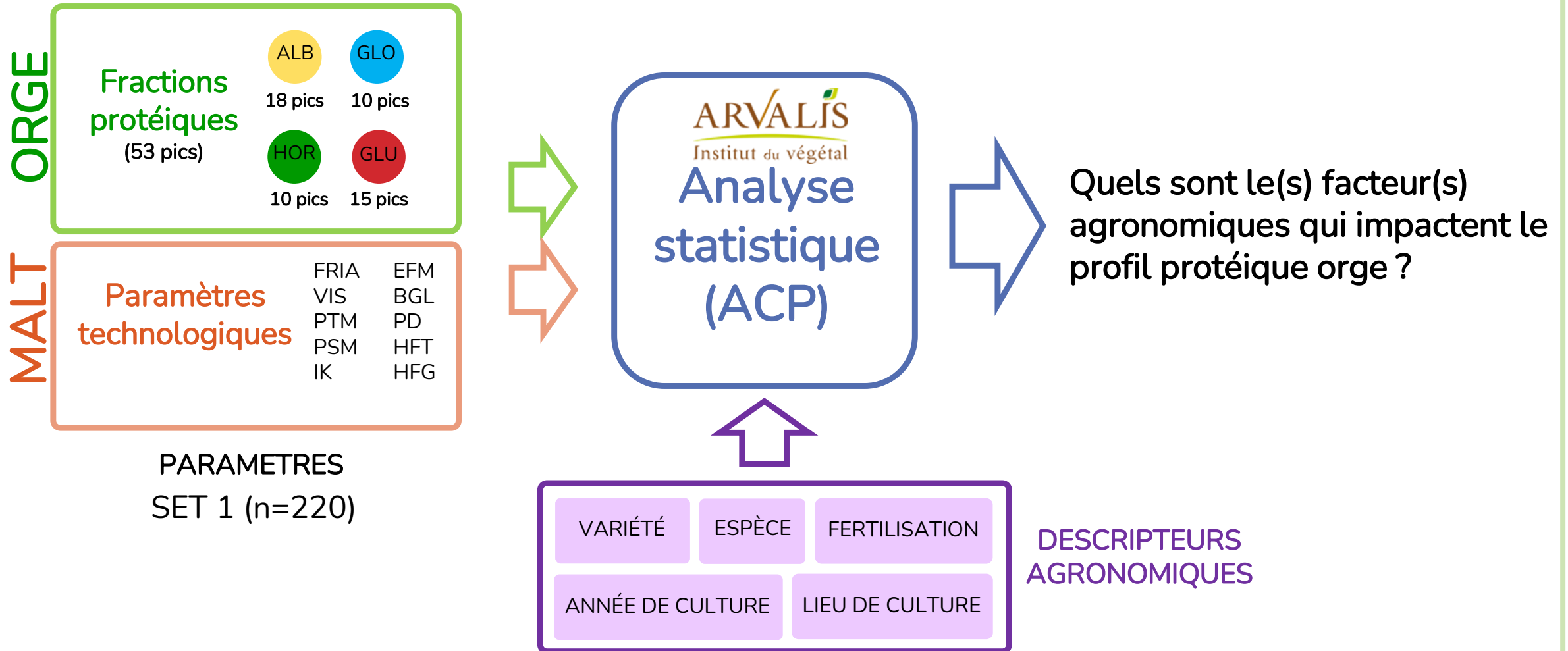


Q1. Descripteurs agronomiques

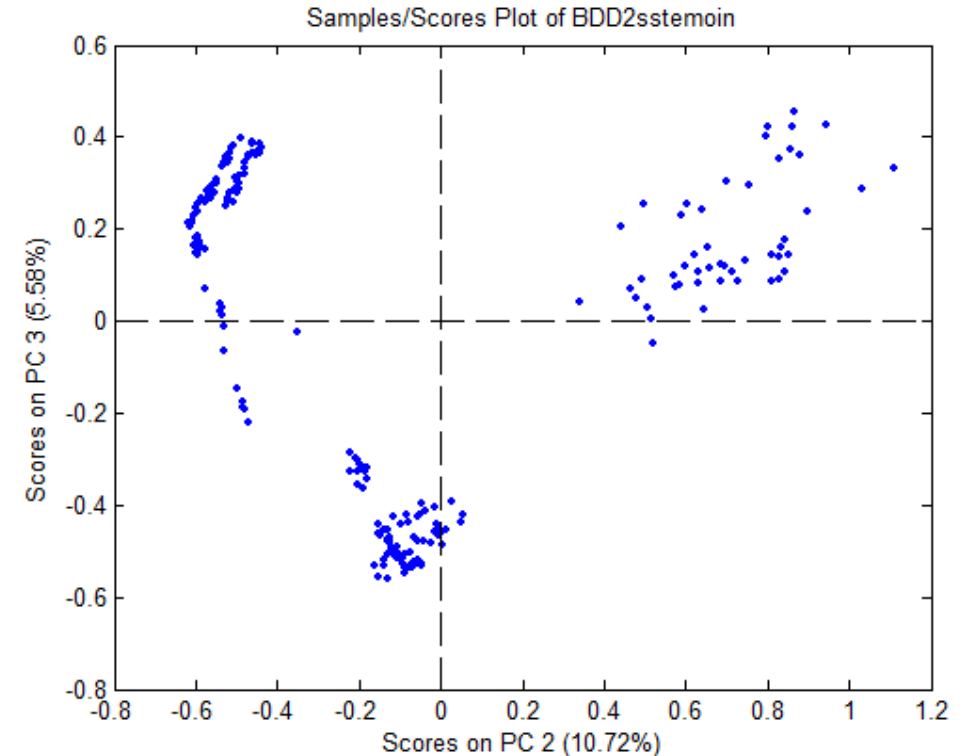
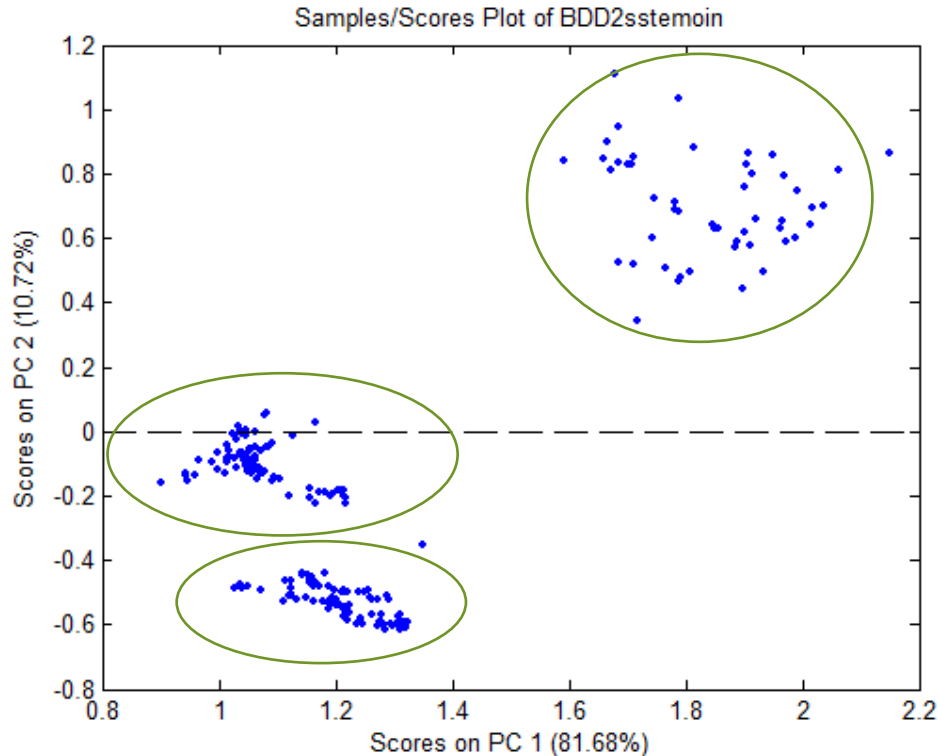


Q1. Base de données agronomique

Objectif : Identifier les leviers qui impactent la composition protéique de l'orge



Q1. Analyse en composantes principales



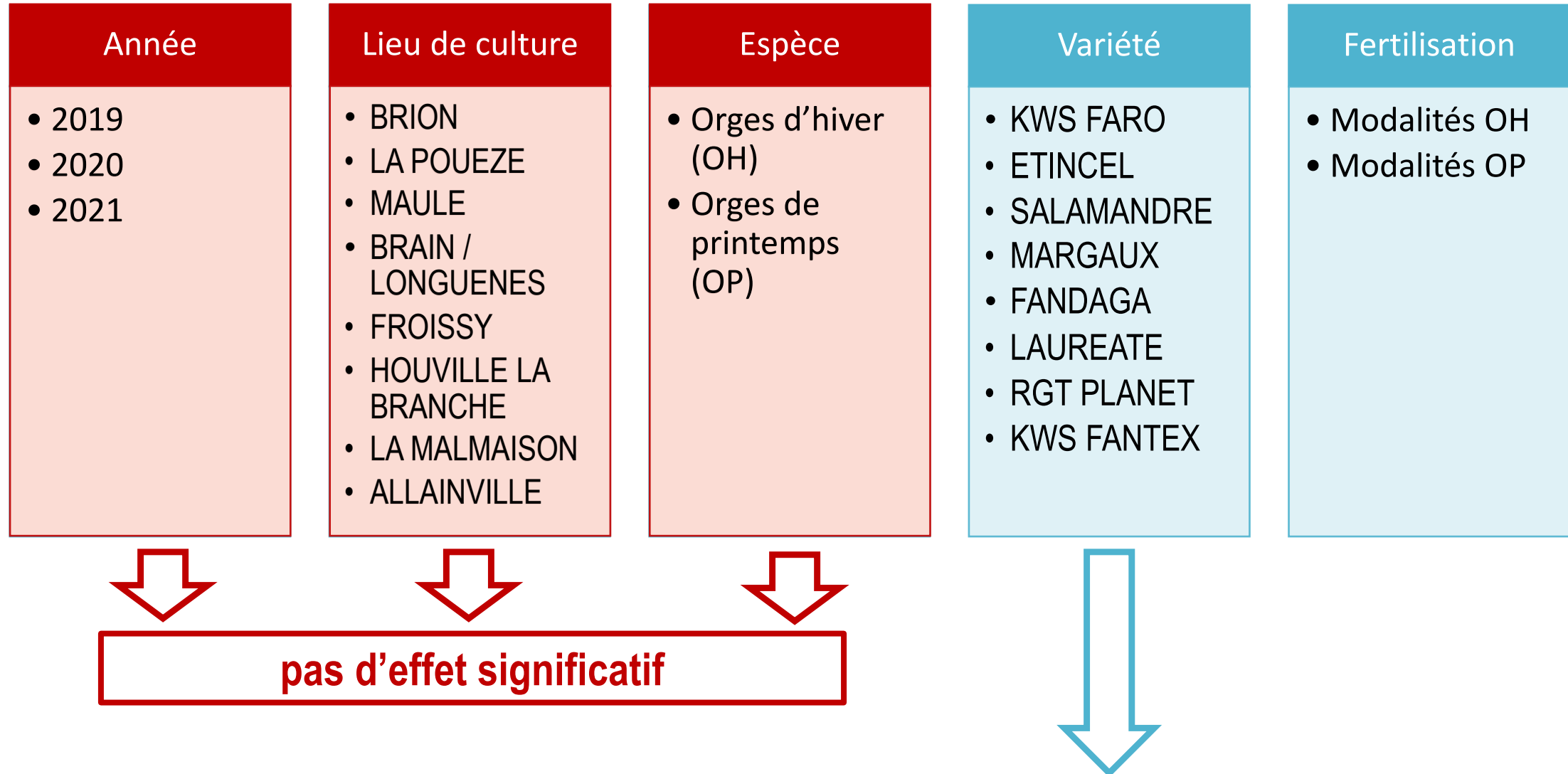
- 3 clusters sont mis en évidence après l'ACP
- Bon score de 92,4 (sur 2 dimensions) et 98,25 (sur 3 dimensions)



Visualiser les effets lieu / récolte / fertilisation / espèces et variétaux

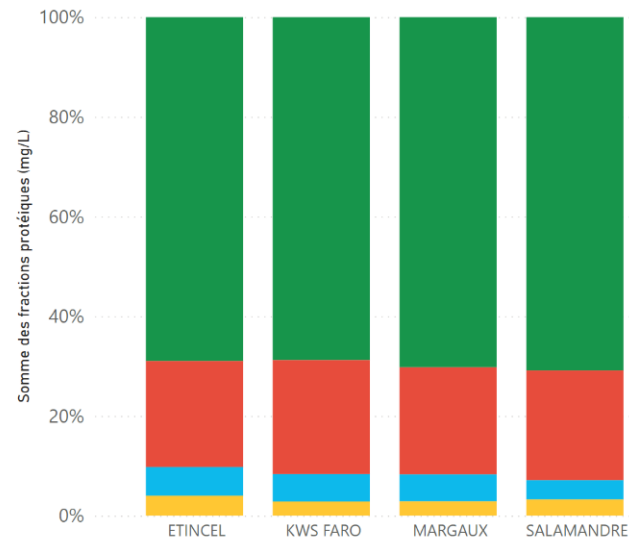
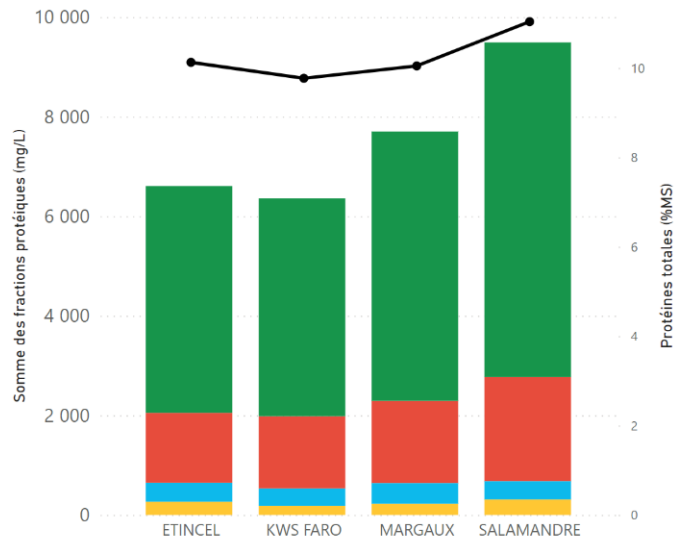


Q1. Descripteurs agronomiques étudiés



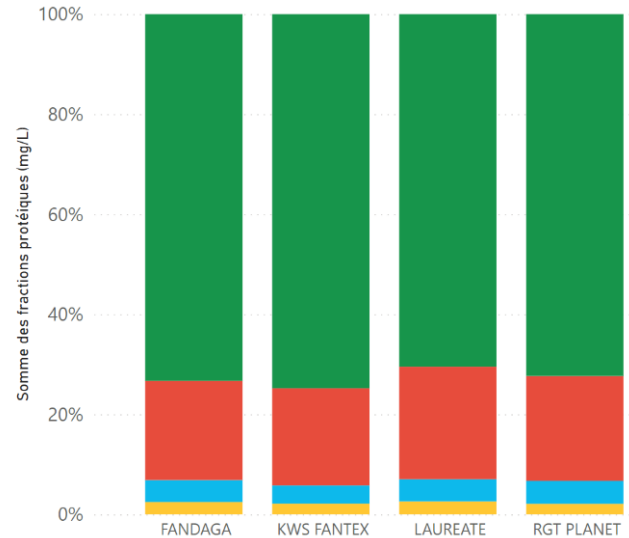
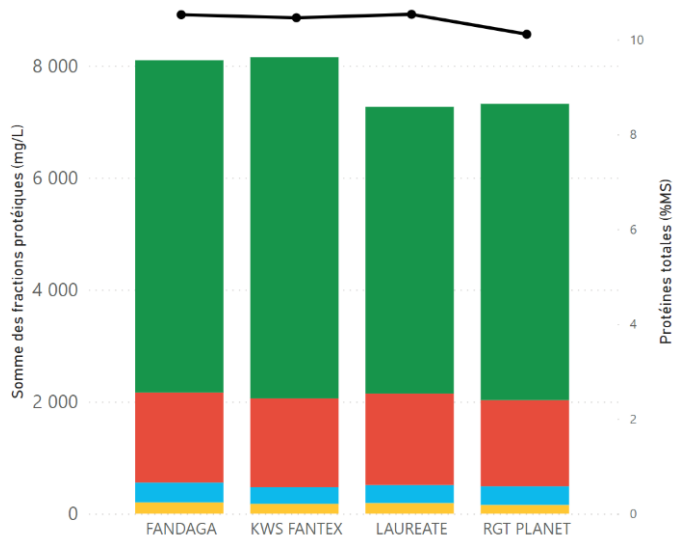
Q1. Variété : analyse des fractions

Orges d'hiver



- ALBUMINES (mg/L)
- GLOBULINES (mg/L)
- HORDEINES (mg/L)
- GLUTELINES (mg/L)

Orges de printemps

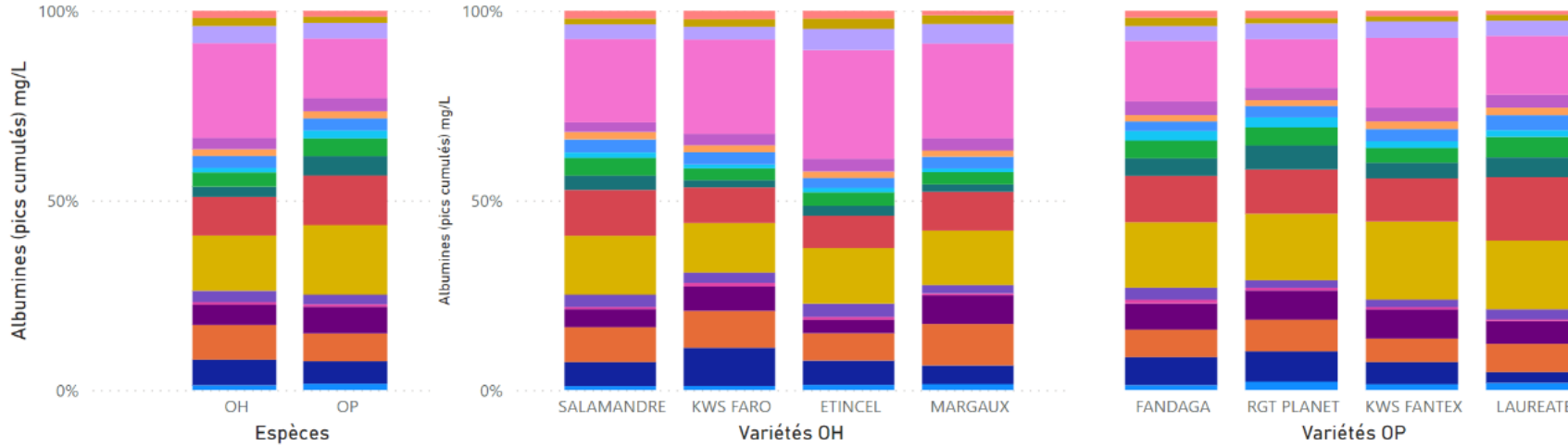


Pas de différences visibles

QUID DE LA COMPOSITION ?

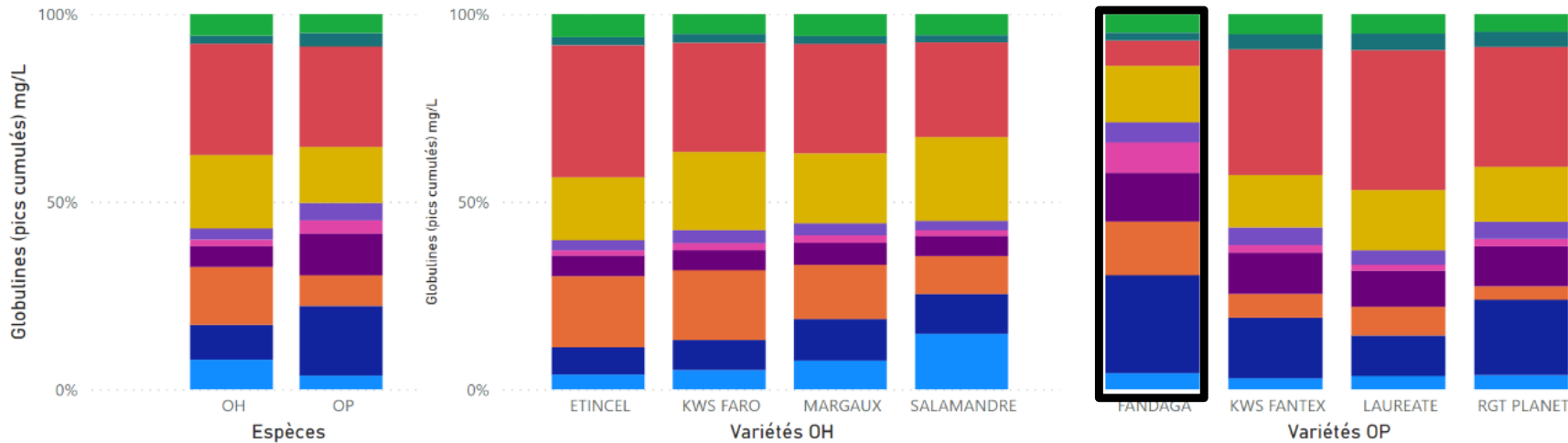
Q1. Variété : analyse des pics

ALBUMINES



Quelques évolutions de ratios mais pas de différence significative

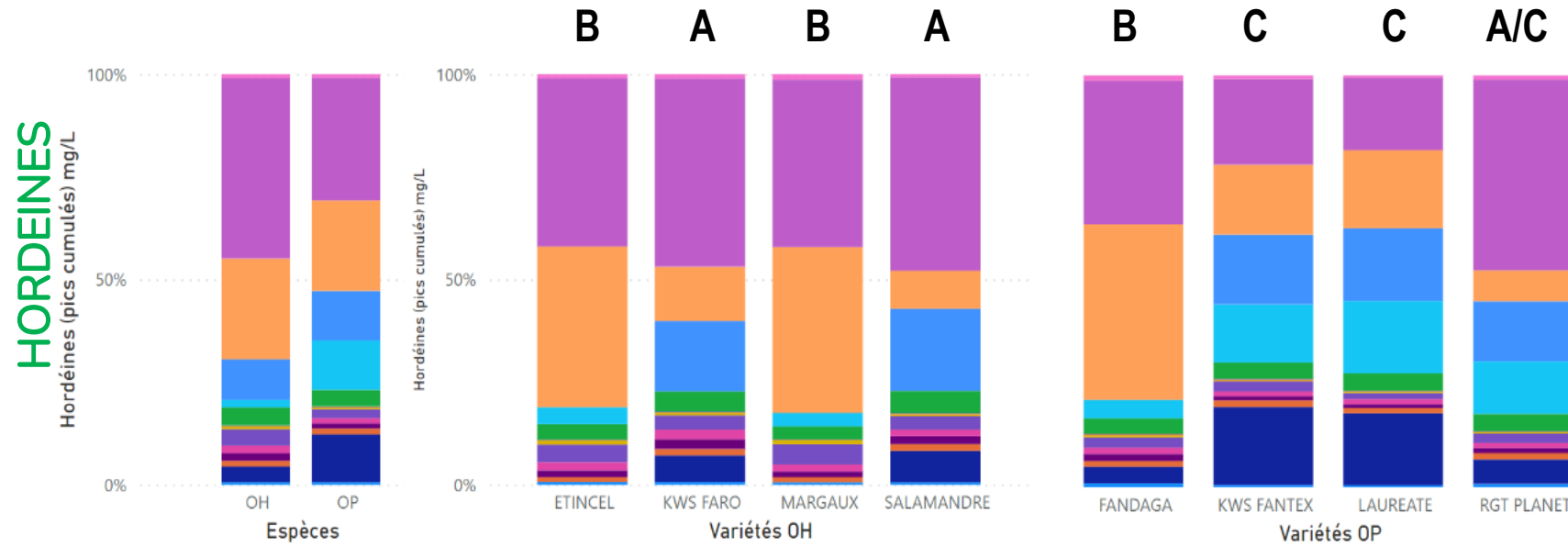
GLOBULINES



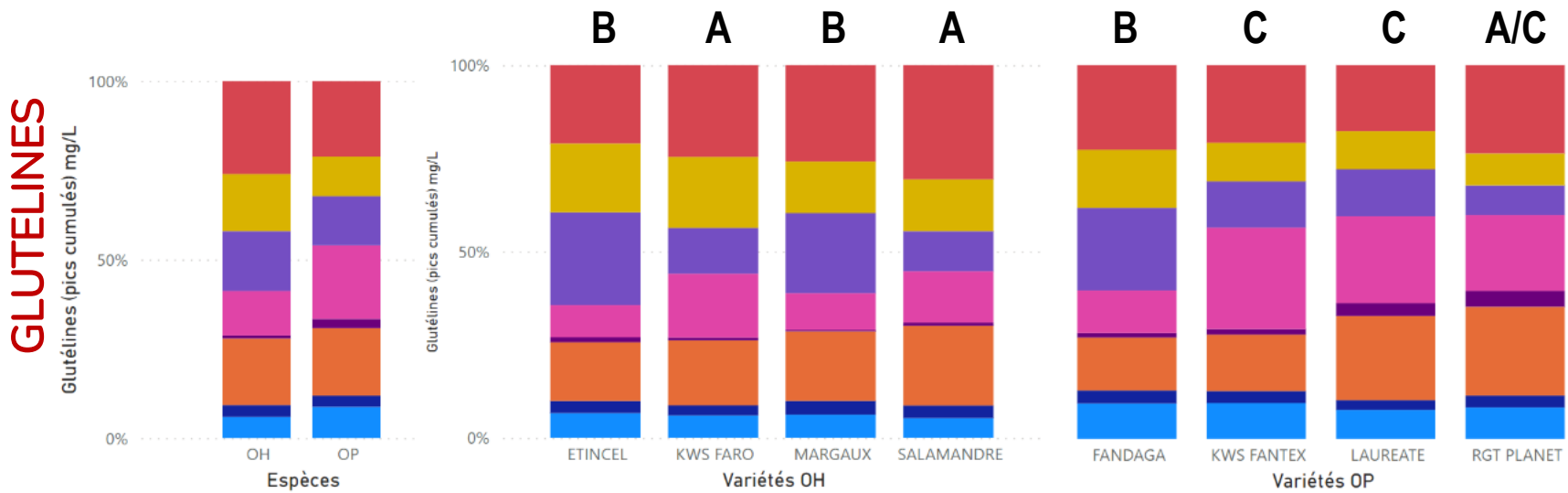
Profil atypique de FANDAGA



Q1. Variété : analyse des pics



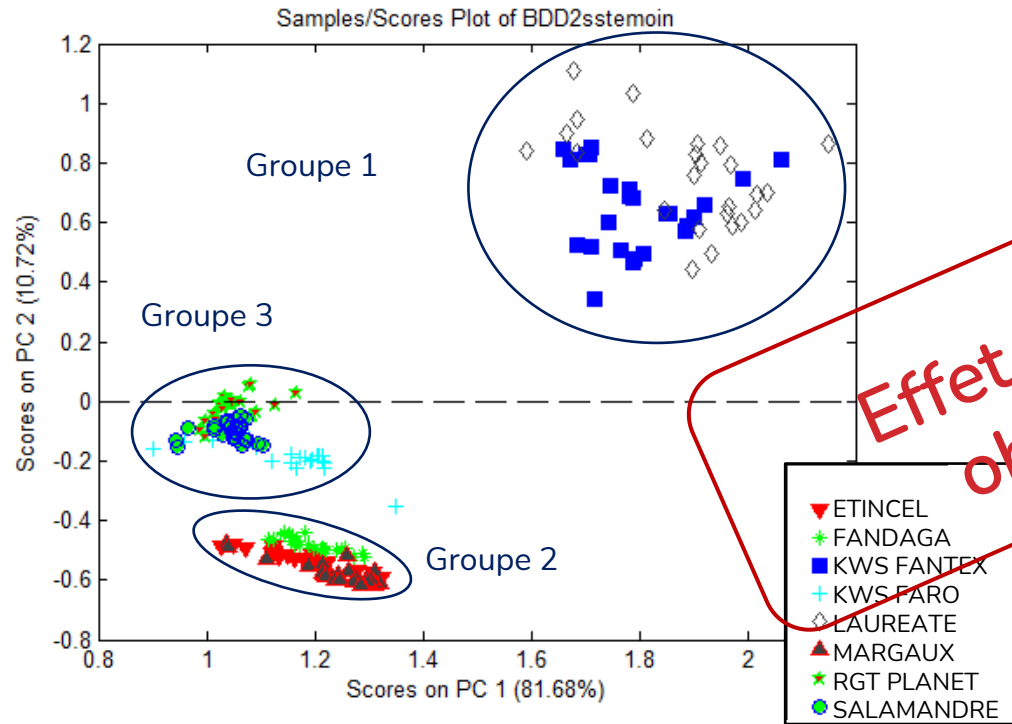
Effet marqué
chez les
hordéines



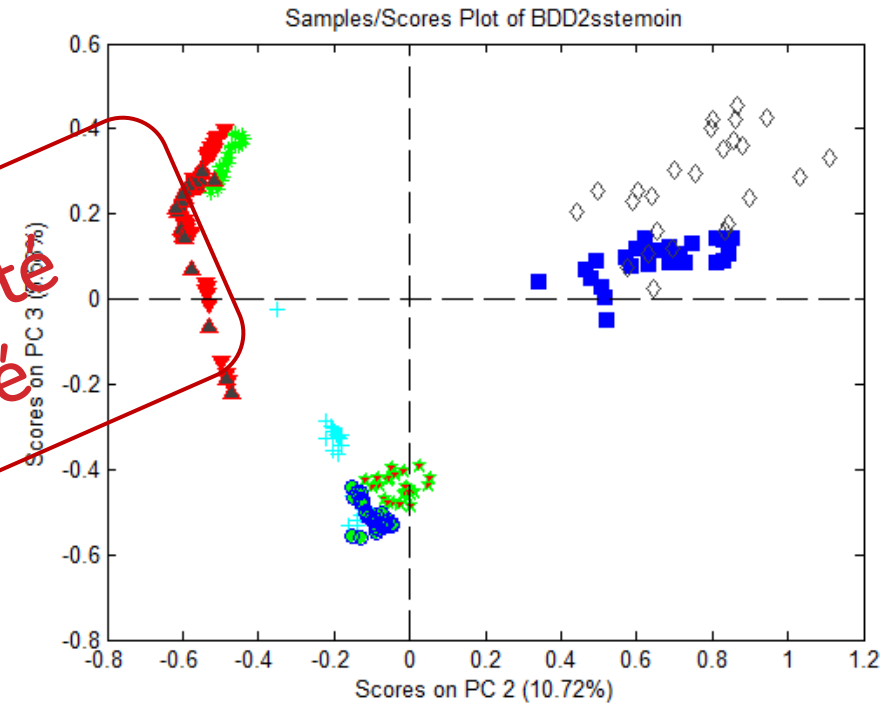
Effet visible
chez les
glutélines



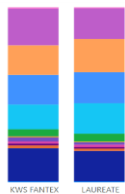
Q1. Variété : ACP



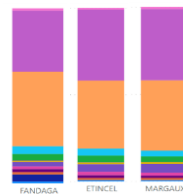
Effet variété observé



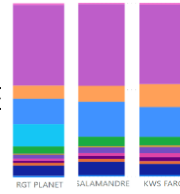
Groupe 1 :
KWS FANTEX
LAUREATE



Groupe 2 :
FANDAGA,
ETINCEL
MARGAUX



Groupe 3 :
RGT PLANET
SALAMANDRE
KWS FARO

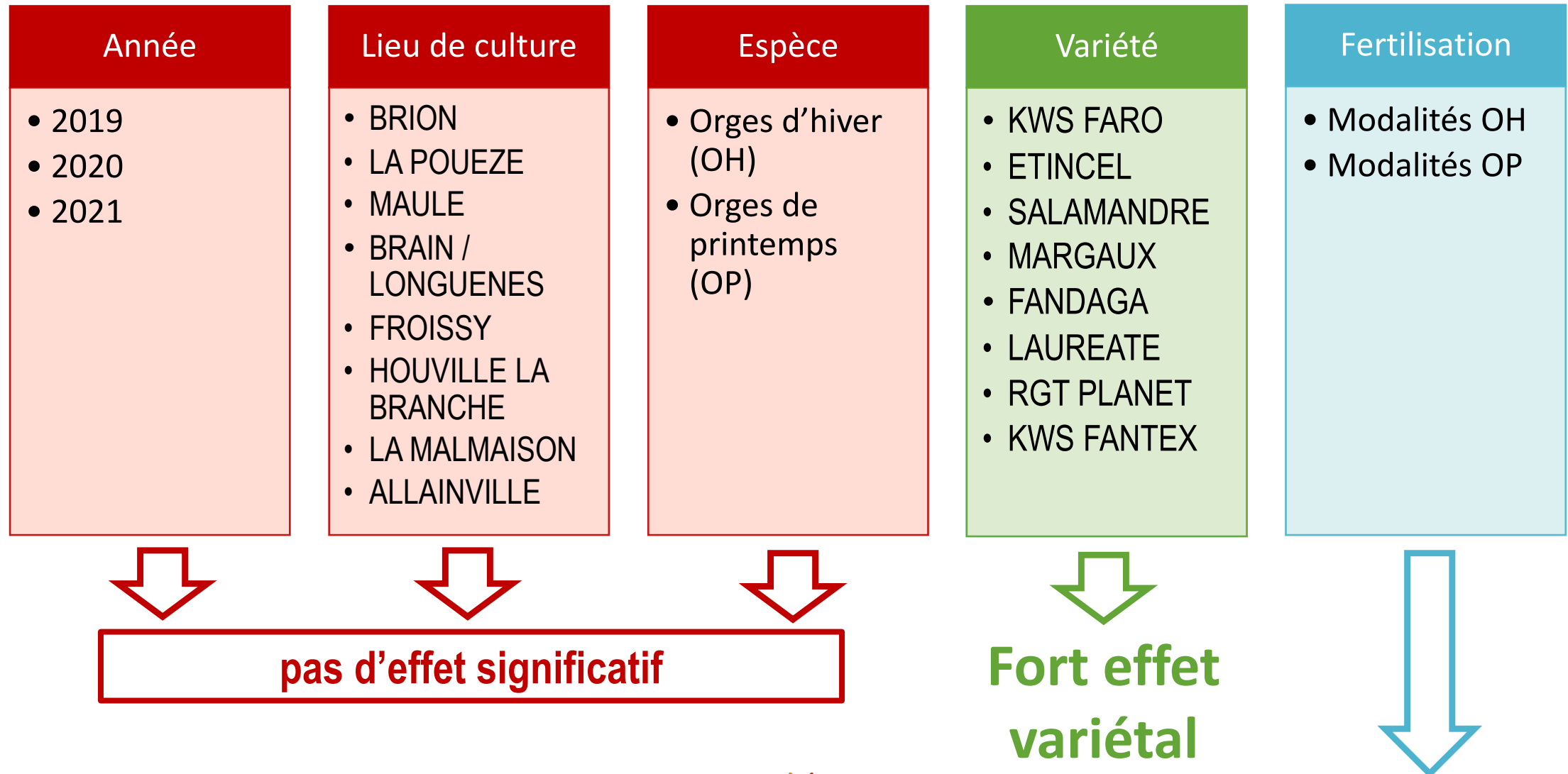


Confirmation de la formation de groupes de variétés par ACP (indépendamment de l'espèce)

NB : histogrammes des pics d'HORDEINES pour chaque variété



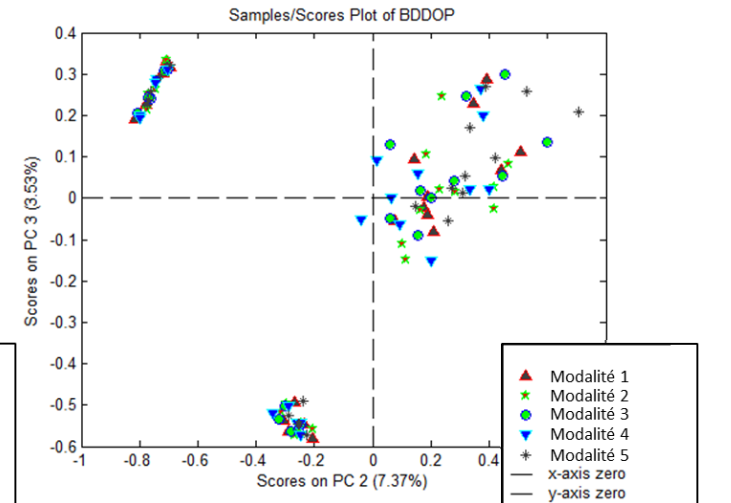
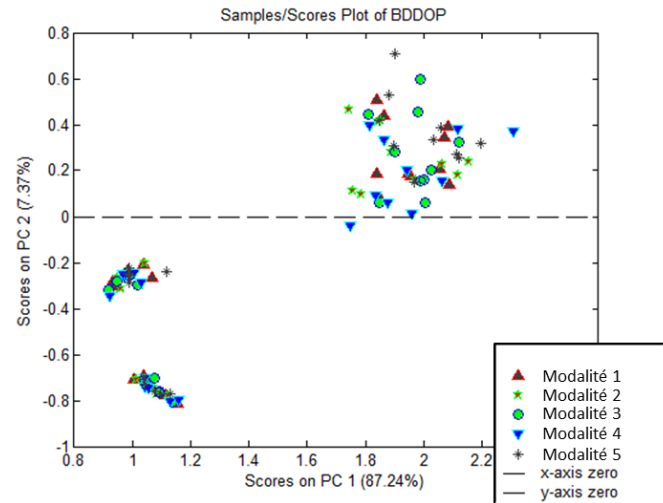
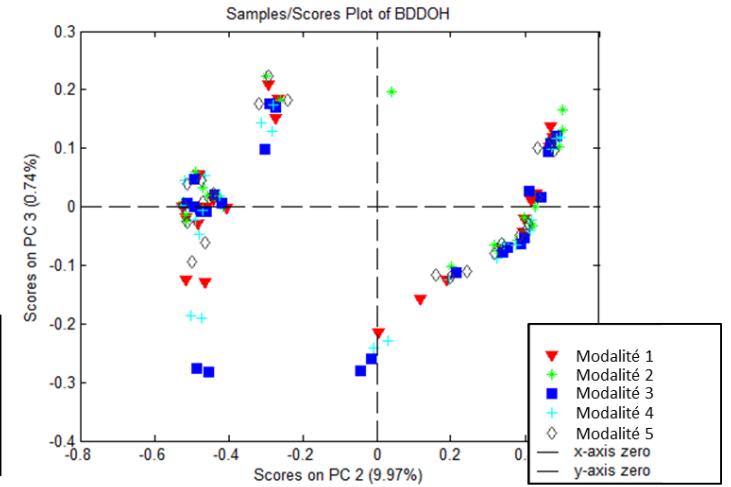
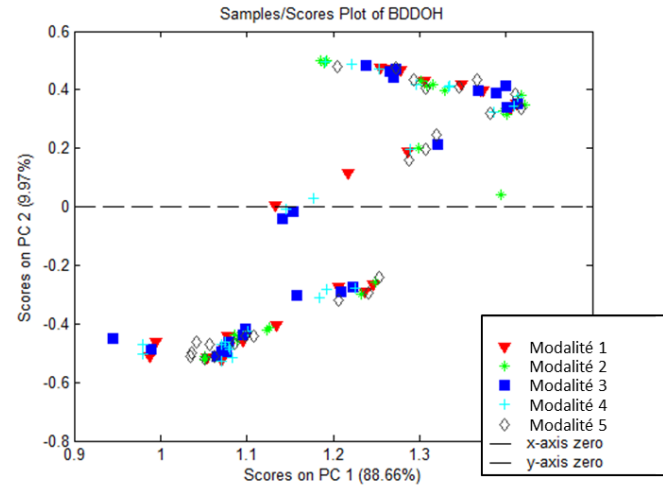
Q1. Descripteurs agronomiques étudiés



Q1. Fertilisation : ACP

MODALITÉS	T1	T2	T3	T4	T5
Dose d'azote (kg N/ha)	X	X	X	X + 30 %	X - 30 %
Tallage (Z21)	1/3	2/3	0	1/3	1/3
Epi 1 cm (Z30)	2/3	1/3	2/3	1/3	2/3
Dernière feuille			1/3	1/3	

MODALITÉS	T1	T2	T3	T4	T5
Dose d'azote (kg N/ha)	X	X	X	X + 30	X - 30
Au semis	X		X/2	X/2	(X-30) / 2
Début du tallage		X	X/2	X/2	(X-30) / 2
Epi 1 cm				+ 30 U N	



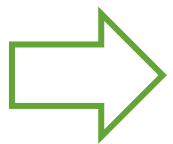
Pas d'effet significatif des modalités de fertilisation

Q1 : Conclusions

Première information importante => la variété a un **fort impact** sur la composition des protéines de l'orge

=> levier de sélection génétique possible !

- Sur quoi se baser pour la sélection ?
- Quelles pourraient être les pics contributeurs de la qualité de l'orge ?



Identifier les pics les plus contributeurs de la qualité technologique



Questions du projet

Q1 : Peut-on identifier des facteurs agronomiques pour piloter le profil protéique **ORGE** ?

Q2 : Peut-on prédire les paramètres **MALT** avec le profil protéique **ORGE** ? => identification de marqueurs protéiques



Q2 : Prédiction de la qualité du malt

PARAMETRES

ORGE

Fractions
protéiques
(53 pics)



MALT

Paramètres
technologiques
(12)

- FRIA • EFM
- VIS • BGL
- PTM • PD
- PSM • HFT
- IK • HFG
- FAN • ATT

ARVALIS
Institut du végétal

Analyse
statistique
(PLS)

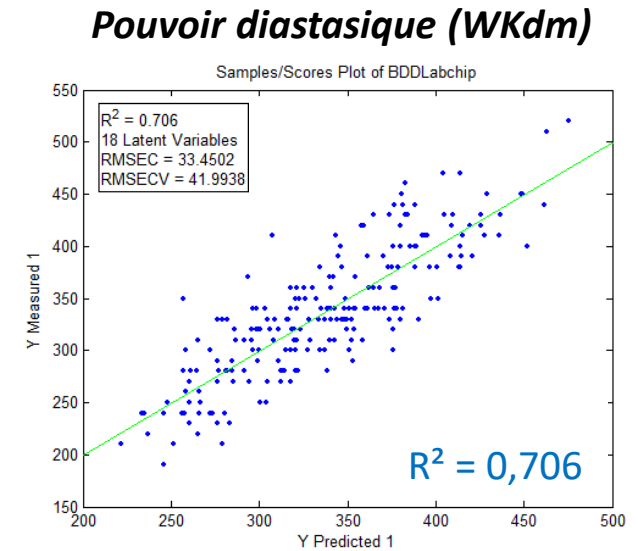
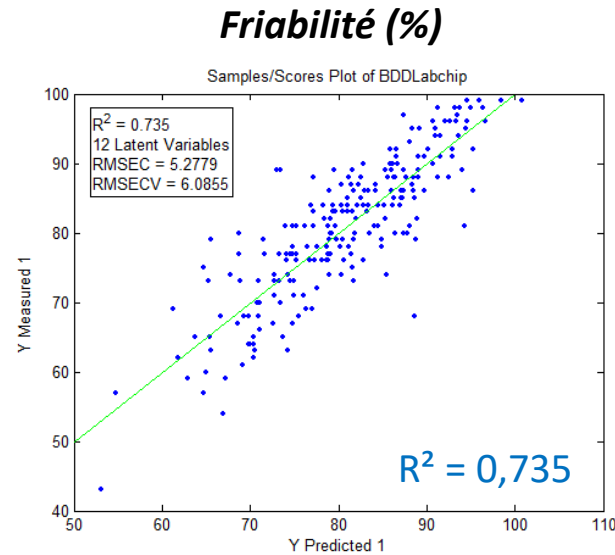
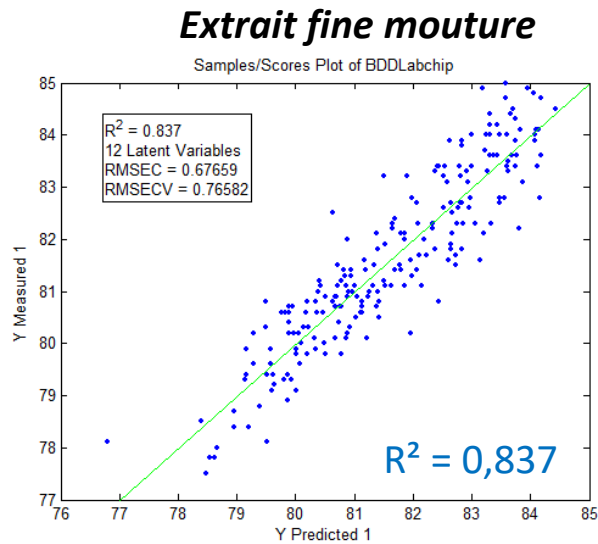
Mettre en relation
les pics isolés de
chaque fraction de
l'ORGE avec des
paramètres
technologiques du
MALT

- 220 échantillons d'orge
- 880 profils
- 11 660 pics isolés

MODELE DE
PREDICTION DES
PARAMETRES MALT
PAR LES FRACTIONS
PROTEIQUES DE
L'ORGE



Q2 : Prédiction de la qualité du malt



Paramètres malt	R ²	Variables	RMSEC	Incertitude brute analytique
Extrait fine mouture	0,837	12	0,68	0,45
Friabilité	0,735	12	5,28	5,47
Pouvoir diastasique	0,706	18	33,45	34,94
Protéines solubles du malt	0,624	13	0,30	0,15
Azote aminé libre	0,662	14	16,03	14,56
Atténuation	0,561	17	1,03	1,43
Viscosité	0,754	16	0,07	0,03
Beta glucans soluble	0,678	13	89,40	39
Humidité fin de trempage	0,665	16	0,82	0,14
Humidité fin de germination	0,607	18	0,76	0,14
Protéines totales malt	0,847	15	0,46	0,29
Indice Kolbach	0,737	16	2,71	-

- Un unique pic n'est pas suffisant pour prédire une qualité de malt (12-18),
- Identification de 20 pics contributeurs aux différents modèles de prédictions



7 pics



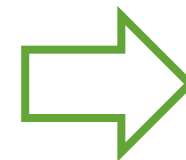
3 pics



6 pics



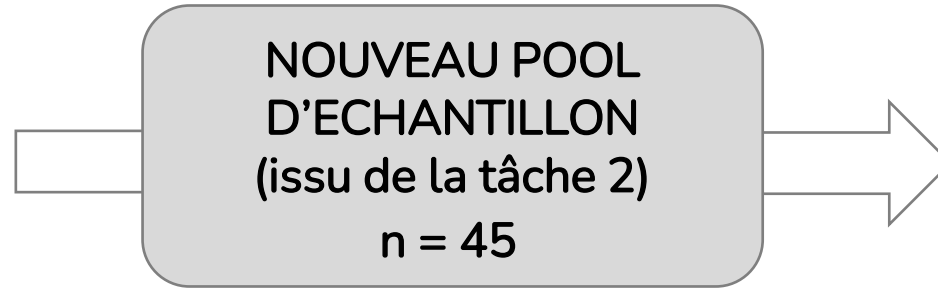
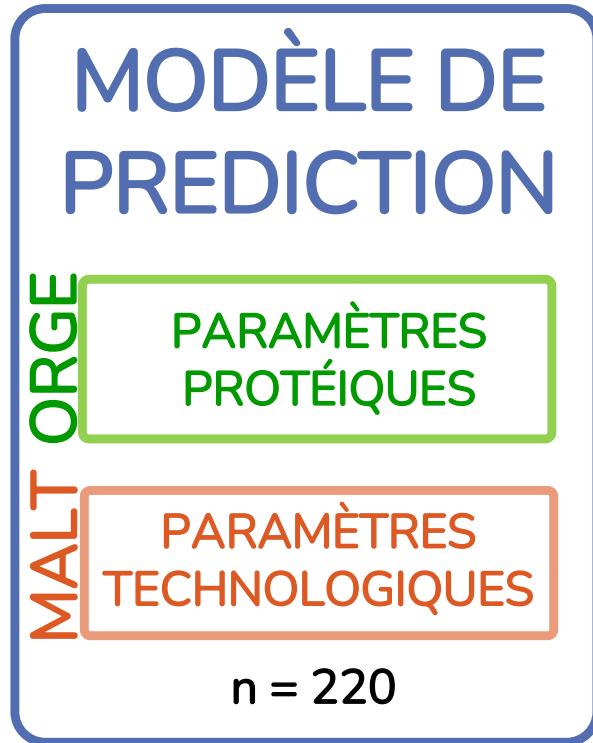
4 pics



Modèle à valider



Q2 : Validation de la prédiction



Comparaison entre la valeur prédite et la valeur mesurée

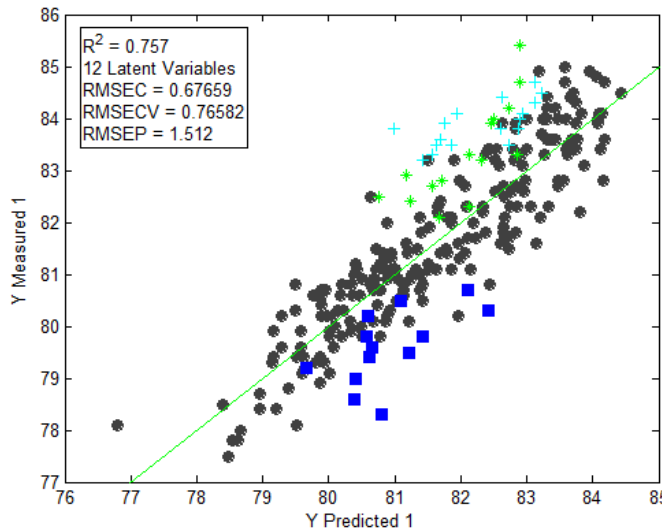
- 2 espèces :
 - 32 OP
 - 13 OH
- 1 année de récolte : 2018*
- 3 variétés :
 - RGT PLANET
 - ISOCEL*,
 - KWS IRINA*
- 2 lieux d'essais :
 - MARSON*,
 - VIAPRES*

* : facteur non présent lors de la création du modèle de prédiction

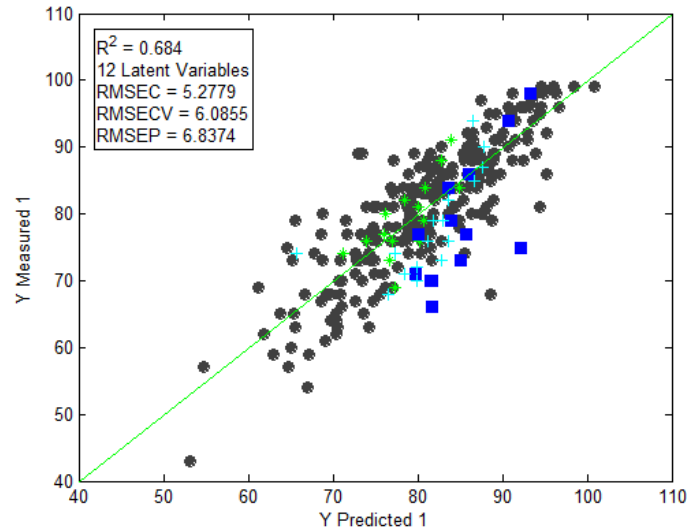


Q2 : Validation de la prédiction

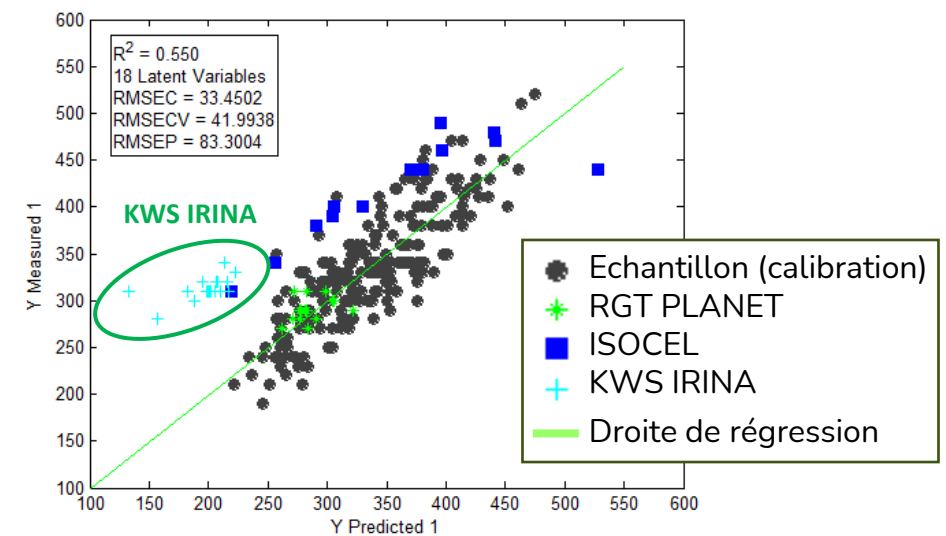
**Extrait fine mouture
(%MS)**



**Friabilité du malt
(%)**



**Pouvoir diastasique du malt
(WKdm)**



- **Extrait fine mouture** : les 3 nouvelles populations suivent la calibration mais sont dans les limites de cette dernière
- **Friabilité du malt** : bonne intégration des nouvelles populations mais **ISOCEL** est un peu dispersée
- **Pouvoir diastasique du malt** : Eloignement de **KWS IRINA** du modèle, **RGT PLANET** est bien intégré dans la population de calibration et **ISOCEL** est linéaire mais en limite de la population de calibration



Les nouvelles variétés s'éloignent du modèle de prédiction



Q2 : Prédiction de la qualité du malt

Modèle de prédiction par PLS

- Un unique pic n'est pas suffisant pour prédire une qualité de malt,
 - 12-18 pics sont nécessaires pour un seul paramètre dans le dispositif actuel
- 20 pics d'orge ont une contribution importante dans les modèles de prédictions

Validation du modèle avec de nouveaux échantillons

- Le modèle n'est pas assez solide pour la prédiction d'échantillons de « variétés inconnues »
- Les nouvelles variétés s'éloignent du modèle actuel
 - ⇒ Effet de la variété ?
 - ⇒ Créer un modèle mathématique par variété ?

 **Poursuivre l'amélioration du modèle avec l'introduction de diversité génétique**



Livrables du projet PROSIT

Q1 : Impact des facteurs agronomiques pour piloter la qualité protéique au champ

La variété a un impact important sur les profils protéiques

- Visible particulièrement sur la fraction « hordéines »
- Les variétés peuvent être regroupées selon les pics (indépendamment de l'espèce pour certains)
- Pas d'influence des autres paramètres (selon nos résultats)

Q2 : Prédiction de la qualité technologique par la qualité protéique de l'orge

Dans le cadre de notre analyse, certains pics protéiques permettent de prédire la qualité technologique du malt

- Avec des R^2 compris entre 0,560 et 0,840 selon le paramètre technologique
- **MAIS** ce modèle est limité aux variétés étudiées



Perspectives du projet

PROSIT 2

- Elargir la base des génotypes analysés pour compléter la BDD afin de voir combien de « typologies » de variétés différentes peuvent être définies
- Affiner le nombre de pics protéiques porteurs d'informations en lien avec la qualité brassicole

Attentes sociétales => réduction des intrants

- Travail sur des essais avec réduction de la fertilisation azotée
- Physiologie :
 - Marquage azote pour le suivre dans la plante ?
 - Forme de l'apport azoté ?
 - Soufre & phosphore ?

FINALITE DU PROJET :

Mettre à dispositions des sélectionneurs des clés afin d'orienter leurs croisements vers des variétés qui répondront aux attentes des utilisateurs tout en contribuant à la décarbonation de la filière



Remerciements

Remerciements

- FSOV
- Fondation de la Malterie et de la Brasserie
- Les partenaires du projet :
 - UFS et tous les sélectionneurs
 - GEVES
 - ARVALIS
 - Malteurs de France
 - Brasseurs de France



Contact :

IFBM

Julien BILLARD

Julien.billard@qualtech-groupe.com

