

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

Clément DEBITON<sup>1</sup>, François-Xavier OURY<sup>1</sup>, François BALFOURIER<sup>1</sup>, Gérard BRANLARD\*<sup>1</sup>, Pascale GADONNA<sup>2</sup>, Larbi RHAZY<sup>2</sup>, David MARIER<sup>2</sup>

\* **Coordinateur** : Gérard BRANLARD<sup>1</sup>, branlard@clermont.inra.fr, Tél. : 04 73 62 43 16

1 - INRA Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales - 234 avenue du Brézat, 63100 Clermont-Ferrand

2 - Institut Polytechnique LaSalle Beauvais - 19 rue Pierre Waguey, BP 30313, 60026 Beauvais

Avec la participation des sélectionneurs du CETAC :

S. Dutriez, CAUSSADE semences ; J.M. Delhay, LEMAIRE Deffontaines ; S. Sunderwirth, MOMONT et fils ; C. Michelet, R2N ; V. Lein, SAATEN Union Recherche ; P. Giraudeau, Secobra Recherche SA ; Ph. Lerebour, UNISIGMA ; Gie Recherche et Sélection.

Dans le but d'identifier des critères de sélection du blé destiné à la production de bio-éthanol, les objectifs de ce projet de recherche étaient 1/ de mettre en évidence les caractéristiques physico-chimiques du grain associées aux rendements en glucose et éthanol, et 2/ d'étudier par approche protéomique l'effet de variants génétiques affectant la quantité d'amylose sur le métabolisme des sucres et de l'amidon. Un essai multi-local d'une trentaine de variétés préalablement choisies pour offrir une grande diversité de composition du grain a été implanté deux années consécutives en plusieurs lieux en France. 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. Cet essai a permis de préciser l'importance des effets génétiques et environnementaux sur les caractéristiques du grain ayant une influence sur les rendements en glucose et éthanol. Ces rendements sont apparus peu héréditaires. Ces essais ont montré que des rendements élevés en glucose et éthanol pouvaient être atteints et que des différences significatives existaient entre variétés pour ces deux critères, exprimés par tonne de blé et *a fortiori* par hectare. Parmi les seize variables physico-chimiques et technologiques prises en compte, plusieurs ont été associées aux rendements en glucose et en éthanol. Un troisième essai multi-local incluant les lignées isogéniques waxy et partiellement waxy des variétés Crousty, Soissons et Trémie a été mis en place la dernière année. La diminution de la quantité d'amylose dans le grain, influença négativement les rendements en glucose et en éthanol. Les lignées isogéniques de Trémie ont permis d'étudier la réponse du génome à l'introduction des allèles nuls des gènes waxy codant pour les GBSS (Granules Binding Starch Synthase). Cette étude conduite dans le cadre d'une thèse CIFRE par une approche protéomique a fait l'objet de deux publications ci-dessous référencées.

## 1. Introduction

La production de bio-éthanol en France n'a cessé de croître depuis les cinq dernières années (de 101 ML en 2004 à 1250 ML en 2009). Pour atteindre les exigences de réduction des gaz à effet de serre du protocole de Kyoto, l'Union européenne doit incorporer 5,75% d'éthanol dans les carburants en 2010 et 10% à l'horizon 2020. D'importants

progrès ont été conduits au niveau industriel pour optimiser la production d'éthanol (broyage, température, temps de fermentation et enzymes hydrolytiques). En revanche, le grain n'a pas fait l'objet de recherches en vue de définir les caractéristiques favorables au rendement élevé en glucose et en éthanol. Dans le but d'identifier des critères de sélection du blé destiné à la production de bio-éthanol, les objectifs de ce projet de recherche étaient les suivants :

- 1 - Mettre en évidence des caractéristiques du grain et de composition de l'amidon et de ses propriétés d'hydrolyse associées à une variabilité génétique
- 2 - Identifier l'effet des trois gènes waxy sur les paramètres de rendement et de vitesse de conversion de l'amidon dans la production de bio-éthanol
- 3 - Mettre à disposition des marqueurs et ou des variables de mesures utilisables en sélection
- 4 - Identifier les caractéristiques optimales à rechercher dans un génotype pour obtenir une variété à haut rendement en éthanol
- 5 - Étudier par approche protéomique l'effet de variants génétiques affectant la quantité d'amylose sur le métabolisme des sucres et de l'amidon.

## 2. Les dispositifs expérimentaux

- 1 - Mise en place d'un essai multi-local et pluriannuel avec des cultivars français. Trente variétés préalablement choisies selon leur potentialité de productivité et de diversité génétique ont été implantées durant les deux premières années 2006-2007 et 2007-2008 dans quatre lieux différents en France. Deux conditions de fertilisation azotées (présence ou non d'un troisième apport) ont été appliquées dans ces essais
- 2 - Mise en place d'un essai multi-local en 2008-2009 dans 8 lieux avec un sous ensemble (22) des trente cultivars et avec les 8 lignées isogéniques waxy de chacune des variétés Crousty, Soissons et Trémie
- 3 - Analyses des caractéristiques physico-chimiques et technologiques des grains (PMG, PS, protéines, dureté, viscosité des pentosanes, distribution des tailles des granules d'amidon, teneur en amylose, Temps de chute d'Hagberg, diversité des sous unités gluténines de haut et faible poids moléculaire) de ces blés

4 - Mise en place d'un procédé d'analyse en laboratoire de la production de glucose et de son hydrolyse en éthanol et étude des aptitudes à la transformation en éthanol des variétés et lignées expérimentées. La quantité de glucose libérée obtenue après hydrolyse des moutures de blés fut mesurée à l'aide de kit Megazyme et la quantité d'éthanol effectivement produite après fermentation fut mesurée par chromatographie en phase gazeuse

5 - Analyse protéomique des lignées waxy de la variété Trémie (Thèse CIFRE de Clément DEBITON).

### 3. Présentation de quelques résultats

#### ► Caractéristiques physico-chimiques et technologiques des variétés françaises

##### *Variations des caractéristiques dans les essais multi-locaux*

##### **Le rendement parcellaire :**

Les rendements ont été relativement élevés. La valeur moyenne des essais analysés est de 9,65 t/ha. Des différences significatives entre lieux d'essais ainsi qu'entre variétés ont été observées. Les rendements variétaux se situent entre 9,09 t/ha et 10,59 t/ha.

##### **Le poids de mille grains :**

Le PMG le plus élevé est observé pour Mendel (53,5 g) et le plus faible pour Voltige (37,7 g). Les valeurs moyennes les plus faibles (élevées) ont été observées l'année 1 (3).

##### **Le poids spécifique :**

Le PS, relativement satisfaisant (moyenne générale 77,7) va de 75,5 pour Bagou à 81,4 pour une des lignées INRA. En 2008, l'expérimentation dans un des quatre lieux aboutit à des valeurs faibles pour ce caractère, significativement diminué par l'absence du troisième apport azoté.

##### **Le taux de protéines :**

L'amplitude de ce caractère est relativement faible sur l'ensemble des cultivars observés. La teneur en protéines va de 10,6 pour Glasgow à 12,7% pour Québon. Notons que le dispositif expérimental n'a pas été conduit pour obtenir de fortes teneurs en protéines ; ce qui aurait été opposé à un rendement élevé en éthanol.

##### **La dureté du grain :**

Le choix des cultivars mis en expérimentation avait exclu les types "very soft" et "very hard". Les valeurs moyennes de dureté s'échelonnent logiquement entre 19 pour Glasgow et 84,9 pour Québon. Bien que ce caractère soit essentiellement variétal, les valeurs ont été plus élevées l'année 1.

##### **Le temps de chute d'Hagberg :**

Le temps de chute de Hagberg le plus élevé a été observé pour la variété Sankara (422s) et le plus faible pour Tapidor (149s). En dehors de Tapidor, toutes les autres variétés ont des valeurs supérieures à 225. Les valeurs de l'année 2006-2007 sont significativement inférieures à celles des deux autres années.

##### **La viscosité des pentosanes :**

La viscosité potentielle a été réalisée sur les expérimentations de la première année et la viscosité réelle sur celles de la seconde et troisième année. Ces deux modes de mesure de la viscosité capillaire des pentosanes répondent à une forte

influence génétique. L'amplitude de la viscosité potentielle paraît plus large de 1,45 pour Crousty à 4,13 pour Tapidor, que pour la viscosité réelle (allant de 1,1 pour Timber à 1,4 pour Tapidor), mais ces mesures sont très corrélées.

##### **Les proportions des granules de type A, B et C :**

La distribution des tailles de granules d'amidon est fournie par granulométrie laser à partir d'un extrait purifié de granules d'amidon. Les granules de type A ont un diamètre supérieur à 10 microns allant jusqu'à plus de 40 microns, les B vont de 2 à 10 microns et les C ont un diamètre inférieur à 2 microns. De fortes différences variétales existent pour la proportion des types de granules d'amidon.

##### **La teneur en amylose :**

Les valeurs, comme attendu, varient peu autour de la moyenne 23,4% de MS. On observe cependant quelques différences entre variétés : Glasgow possède la teneur la plus faible (21,9%), Timber et Bagou ont la teneur la plus élevée (25,2%). Le troisième apport d'azote a favorisé l'accumulation d'amylose.

##### **Le rendement en glucose (kg/t) :**

Globalement les variétés possèdent un bon rendement en glucose. Les valeurs de glucose libéré sont comprises entre 640 et 770 kg/t de MS. Ce rendement moyen en glucose par variété est compris entre 688,7 et 743,5 kg/t de MS. La variation entre les différents cultivars est cependant assez faible (55 kg/t de MS), compte tenu des différences importantes observées pour les autres caractéristiques du grain. Ce rendement varie fortement en fonction du lieu et de l'année, mais ne semble pas influencé par le traitement azoté.

##### **Le rendement en éthanol (l/t) :**

On constate comme pour le rendement en glucose que les variétés ont également un bon rendement en éthanol (moyenne générale sur les deux premières années 462,9 l/t. Les valeurs moyennes variétales vont de 441 l/t à 473 l/t. La moyenne de tous les blés testés fut aux alentours de 453,5 l/t. Ce rendement en éthanol est bien supérieur aux 350 l/t couramment rapportés par les industriels pour le blé tendre. La quantité moyenne d'éthanol produite à partir des blés testés est très proche sur les trois années, puisque nous obtenons 460 l/t de MS en année 1, 468 l/t en année 2, 453 l/t en année 3. Une différence maximale d'à peine 30 l/t a été observée entre les moyennes extrêmes des lieux.

##### **Les rendements en glucose et éthanol à l'hectare :**

Les moyennes générales sont de 6760 kg/ha et 4320 l/ha de glucose et d'éthanol, respectivement. Ces rendements en glucose et éthanol ramenés à l'hectare, sont bien évidemment largement influencés par les valeurs de rendement en grain obtenues sur ces variétés. Ainsi la variété apparue comme la plus productive en rendement en grain fut aussi celle qui possède les rendements en glucose et éthanol les plus élevés (7487,3 kg/ha et 4748,9 l/ha respectivement). Comme pour le rendement en grain nous observons un effet lieu significatif pour ces deux rendements.

##### *Analyse de la variance et hérédité*

L'analyse de variance sur les variétés françaises, autres que les lignées waxy, a permis de mettre en évidence des effets "variétés" et "année" très hautement significatifs ( $P < 0,001$ ) sur toutes les caractéristiques du grain étudiées (Tableau 1).

	F Variétés	F Année	F Lieux (Année)	F Trait N	F Var x Trait N	R <sup>2</sup> modèle	H <sup>2</sup>
ddl	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*** 29	-	18,8*** 3	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 kg/t	4***	12,84*** 1	14,74*** 6	0,39 <sup>ns</sup>	1,59 <sup>ns</sup>	34,19	0,18
Rdt Ethanol L/t	2,04***	30,58*** 1	7,85*** 6	11,75***	1,68 <sup>ns</sup>	26,58	0,07
Rdt t/ha	4,86***	197,45***	114,78*** 7	0,26 <sup>ns</sup>	0,45 <sup>ns</sup>	74,26	0,04
Rdt Glucose kg/ha	3,91***	19,60*** 1	106,86*** 5	0,23 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>	65,14	0,06
Rdt Ethanol L/ha	3,61***	11,44*** 1	92,42*** 5	0,31 <sup>ns</sup>	0,56 <sup>ns</sup>	61,44	0,06
Amylose	1,87** 31	-	4,1** 3	7,67***	-	20,8	-

Tableau 1 : Analyse de variance réalisée sur les caractéristiques technologiques des variétés françaises implantées les trois années. En italique : les degrés de liberté - \*, \*\*, \*\*\* : significatif au seuil  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectivement - ns : non significatif.

L'effet "lieu" est lui aussi hautement significatif pour toutes les variables étudiées. L'effet du traitement azoté a été significatif pour le taux de protéines, la dureté, la viscosité potentielle, le taux d'amylase et le rendement en éthanol. L'interaction "variétés x traitement azoté" est significative seulement sur les rendements en glucose et en éthanol.

Le calcul de l'héritabilité H<sup>2</sup>, au sens large, sur les données des deux premières années donne des valeurs attendues pour les paramètres suivants : teneur en protéines, dureté, Hagberg et viscosité réelle. Les valeurs H<sup>2</sup> sont relativement faibles pour PMG et PS. L'héritabilité des granules de type A et B est nettement supérieure à celle de type C. Les héritabilités des rendements en glucose et éthanol exprimés en kg/t ou en l/ha sont très faibles.

#### Principales corrélations entre les différentes variables

**Corrélation entre le taux de protéines et le rendement en grain :**  
La corrélation négative entre le rendement en grain et le taux de protéines fut significative dans cinq des huit lieux étudiés. Le coefficient de corrélation est compris entre -0,428 et -0,690.

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

La distribution de la taille des granules d'amidon est significativement reliée à la dureté (Figure 1). Cette corrélation a été mise en évidence dans tous les lieux des deux premières années. Le volume occupé par les granules de type A (diamètre > 10 µm) diminue lorsque la dureté du grain augmente. De même, plus la dureté de l'albumen est importante plus le pourcentage de volume représenté par les granules de type B (taille comprise entre 2 et 10 µm) (Figure 1 ci dessous) et de type C (< 2 µm) est important.

#### Les corrélations avec les rendements en glucose et en éthanol :

Comme attendu le rendement en glucose fut fortement corrélé dans presque tous les lieux au rendement en éthanol. Les coefficients de corrélation sont compris entre 0,45 et 0,638 pour la première année d'expérimentation et entre 0,649 et 0,872 pour la deuxième année. Les corrélations entre ces caractéristiques et le rendement en glucose et éthanol ont été calculées pour chaque lieu.

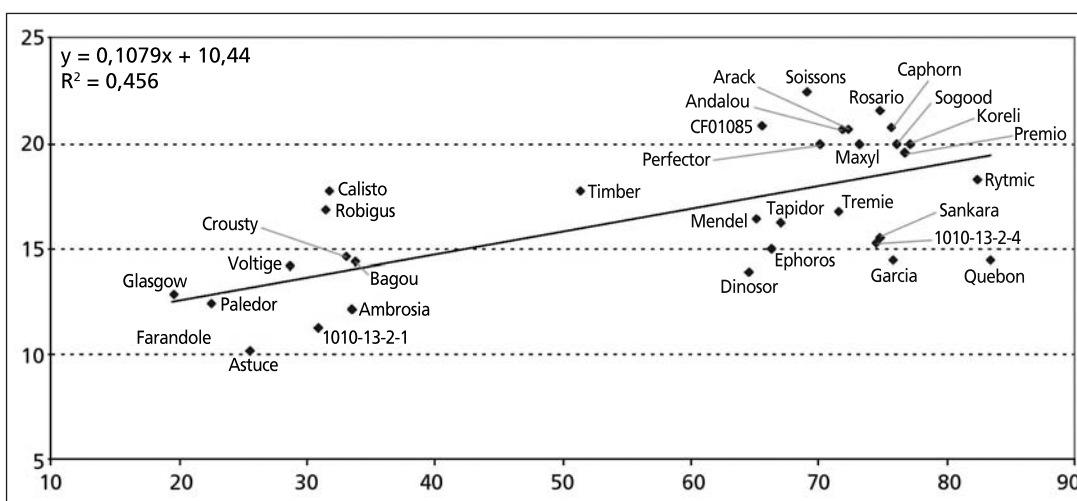


Figure 1 : Corrélation entre la dureté (abscisse) et le volume occupé par les granules de type B (ordonnée) chez les variétés françaises sur les valeurs moyennes multi-locales.

Pour la première année, on relève une corrélation négative entre le taux de protéines et le rendement en glucose dans deux lieux. Cependant le rendement en éthanol n'est influencé significativement par le taux de protéines que dans un seul de ces lieux. Pour la deuxième année, la teneur en protéines a une influence négative significative dans tous les lieux avec le rendement en glucose, la teneur en protéines (coefficients compris entre -0,417 et -0,662) et avec le rendement en éthanol (de -0,419 à -0,695). Ces coefficients mettent en évidence que le rendement en amidon n'est pas suffisant pour expliquer le rendement en éthanol.

Les corrélations avec les rendements en glucose et éthanol ont été poursuivies avec les autres caractéristiques du grain telles que les propriétés physico-chimiques et technologiques et la composition des protéines de réserve. L'analyse de ces corrélations par lieu ainsi que les études de régression multiples et multi-variées ont fait apparaître cinq variables complémentaires à la teneur en protéines (négativement corrélée à la quantité d'amidon) comme significativement associées aux rendements en glucose et/ou en éthanol. Une réflexion a été poursuivie, d'une part sur la signification biochimique et technologique de ces variables complémentaires, révélées significativement associées (soit positivement soit négativement), aux rendements en glucose et/ou en éthanol et, d'autre part sur la prise en compte des facteurs génétiques connus dont elles dépendent. Ainsi, bien que les blés expérimentés dans le réseau d'essai de ce projet aient été choisis comme relativement bien adaptés à la production d'éthanol, l'étude a fait ressortir des caractéristiques génétiques du grain qui permettent d'orienter la sélection pour cet objectif. Ces résultats, non rapportés ici, feront l'objet d'une publication à paraître après le délai de confidentialité du projet de recherche.

De même seront rapportés plus en détail les résultats associés à l'expérimentation des blés waxy et partiellement waxy brièvement présentés ci-dessous.

### ► Caractéristiques physico-chimiques et technologiques des blés waxy

#### *Quelques observations sur les essais des lignées waxy*

Le troisième essai multi-local (2008-2009) incluant les lignées isogéniques waxy et partiellement waxy des variétés Crousty, Soissons et Trémie a été mis en place la dernière année. Cet essai avait notamment pour but de tester l'aptitude de ces lignées à la production d'éthanol.

Les résultats de ces essais seront inclus dans une publication qui paraîtra à l'issue du délai de confidentialité. Mentionnons toutefois que les amplitudes des caractéristiques technologiques et de composition des grains sont comparables à celles observées dans la série des cultivars français expérimentés les deux premières années. Pour les lignées isogéniques de Trémie, qui furent complètement étudiées car associées aux travaux de thèse, plusieurs points peuvent être ici rapportés :

- Sur les rendements en glucose (kg/t) et en éthanol (l/t) : Les lignées nAnBnD (forme triple nulle) et AnBnD (*Wx-A1* fonctionnel, *Wx-B1* et *Wx-D1* nuls) de Trémie possèdent respectivement les valeurs les plus faibles pour le glucose et pour l'éthanol par rapport à la forme normale de Trémie. Les différences entre les autres lignées sont faibles et ne sont pas significatives.

- Sur les rendements en glucose et en éthanol à l'hectare : Les rendements glucose et éthanol les moins bons sont observés pour la forme triple nulle tandis que les meilleurs sont mesurés pour la forme normale. La forme triple nulle, qui possède un rendement en grain diminué de 6%, est logiquement moins productive puisque ses rendements en glucose et éthanol, par tonne de grain, sont aussi significativement diminués.

#### *Analyse de la variance sur les essais des lignées waxy*

Un effet significatif des trois lieux d'expérimentation a été observé pour toutes les variables étudiées sans exception. Ceci n'a pas été le cas pour l'effet du traitement azoté qui n'a pas été significatif pour le PS, le temps de chute d'Hagberg ainsi que les rendements en glucose et éthanol à l'hectare. Aucune interaction "variété x traitement" n'a été observée. Cette analyse a mis en évidence un effet "variété" au moins hautement significatif pour toutes les caractéristiques du grain, excepté pour le rendement en éthanol.

#### *Principales corrélations entre les différentes variables*

D'une manière générale, les corrélations entre les différentes variables observées sur les variétés françaises se retrouvent dans les trois séries des lignées isogéniques. Les corrélations avec les rendements en glucose et en éthanol ont été calculées seulement sur les lignées de Trémie. Comme pour les variétés françaises, le taux de protéines influence négativement les rendements en glucose et éthanol. Les coefficients de corrélation avec le rendement en glucose sont compris entre -0,723 et -0,822. Ces coefficients, ainsi que plusieurs autres observés avec les variables physico-chimiques, ont fait apparaître l'importance du remplissage du grain en amidon pour obtenir un rendement élevé en glucose.

### ► Résultats de l'analyse protéomique des lignées isogéniques waxy

L'introduction d'un allèle nul (non codant) à chacun des gènes *Wx-A1*, *Wx-B1* et *Wx-D1* dans un même fond génétique fait disparaître les Granules Binding Starch Synthases (GBSS) ; enzymes impliquées dans la synthèse de l'amylose (polymère linéaire de glucose). Dans le cadre de la thèse CIFRE, (développée par Clément Debiton sur ce projet), le protéome des grains des lignées isogéniques de Trémie, qui possèdent un, deux ou trois allèles *Wx* nuls, a été étudié pour connaître la réponse du génome à la présence de ces allèles. Les protéines de l'albumen (albumines et globulines ainsi que les protéines amphiphiles) ont été étudiées par une approche protéomique. Cette démarche analytique a mis en évidence des variations quantitatives des enzymes en réponse à la présence des trois allèles nuls. Quand ceux-ci sont réunis au sein du blé Trémie, la sucrose synthase ainsi que la fructose 1,6 biphosphate aldolase sont significativement augmentées. En revanche l'ADP glucose pyrophosphorylase (première enzyme impliquée dans la synthèse de l'amidon) est significativement diminuée. Ces résultats expliqueraient l'abondance de saccharose dans les blés waxy et leur quantité parfois moins élevée en amidon (le PMG est diminué 3,6% chez Trémie waxy). L'analyse des protéines internes aux granules d'amidon a été également conduite. Ainsi sur les 352 spots protéiques révélés, 86 ont



varié entre les lignées isogéniques (Figure 2). On observe une relation étroite entre la quantité de ces GBSS et celle de l'amylose synthétisée dans le grain. On constate que chacun des gènes *Wx-A1* et *Wx-B1* et *Wx-D1* ne contribue pas de façon équivalente à la production d'amylose et que l'additivité des effets n'est pas respectée [Debiton et al.

2010a]. De nombreuses autres enzymes varient; outre celles impliquées dans le métabolisme des sucres et de l'amidon, on observe aussi des variations significatives sur les protéines de stress et de défense [Debiton et al. 2010b]. Ces observations suggèrent un développement du grain incomplet pour la lignée dépourvue d'amylose.

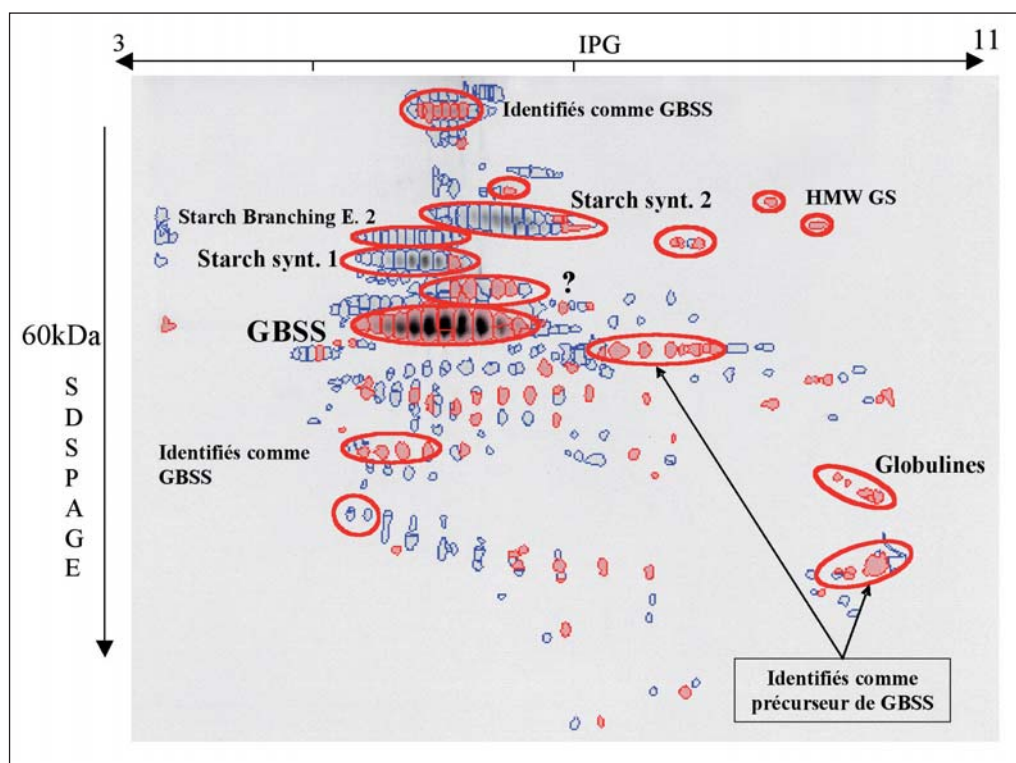


Figure 2 : Electrophorèse bidimensionnelle des protéines, associées aux granules d'amidon, qui furent révélées variant significativement (ici en rouge) entre la variété normale Trémie et les 7 autres formes isogéniques waxy ou partiellement waxy.

## 4. Conclusions

Ce thème de recherche, jamais abordé chez le blé a été appréhendé par une démarche s'appuyant sur une analyse technologique, biochimique et génétique des variations de rendement en hydrolyse de l'amidon et du processus de fermentation en éthanol. Plusieurs résultats ont été obtenus grâce au développement de ce projet.

- 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 - Les rendements en glucose et en éthanol exprimés par tonne de grain et *a fortiori* par ha sont apparus très faiblement héritables.
- 3 - Cependant bien que les cultivars expérimentés aient été dans leur ensemble relativement bien adaptés à cette transformation, la variabilité génétique à exploiter dans

l'espèce blé tendre est vraisemblablement supérieure à celle qui fut mise en évidence (éthanol : 32 l/t de MS, 900 l/ha) dans cette étude.

- 4 - 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.
- 5 - On peut affirmer que le blé adapté à cette transformation n'est ni un blé panifiable, ni semblable aux blés actuels impanifiables.
- 6 - 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.
- 7 - 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.

## Références bibliographiques

[1] Debiton C., Bancel E., Chambon C., Rhazi L. and Branlard G. (2010). Effect of the three waxy null alleles on enzymes associated to wheat starch granules using proteomic approach. *Journal of Cereal Science* 2010, 52, 466-474.

[2] Debiton C., Merlino M., Chambon C., Bancel E., Decourteux M., Planchot V. and Branlard G. (2010). Analyses of albumins, globulins and amphiphilic proteins by proteomic approach give new insights on waxy wheat starch metabolism. *Journal of Cereal Science* 2010, accepté pour publication.