

Compréhension du rapport “Ténacité/ Extensibilité” et du volume du pain

Gérard BRANLARD*¹, Benoît MELEARD², Francois-Xavier OURY¹, Larbi RHAZI³, Nelly BOINOT⁴, les membres du Club5⁵ et du CETAC⁶

* Coordinateur : Gérard BRANLARD, branlard@clermont.inra.fr - 04 73 62 43 16

1 - INRA UMR 1095 GDEC - UBP, 63039 Clermont-Ferrand, Cedex 03

2 - ARVALIS - Institut du Végétal, 91720 Boigneville

3 - Institut Polytechnique - La salle Beauvais, 60 000 Beauvais

4 - Chopin Technologies - 92390 Villeneuve la Garenne

5 - Club5 - 83 av. Grande Armée, 75782 Paris Cedex 16

6 - CETAC - 7 rue Coq Héron, 75030 Paris Cedex 01

La mise en place d'un essai multi local sur deux années comprenant 67 cultivars judicieusement retenus pour leurs caractéristiques rhéologiques et leur aptitude boulangère a permis, après analyse de la composition des grains, des farines et de leurs propriétés technologiques d'apporter des éléments de réponses aux objectifs fixés.

- 1 - le rapport P/L est fortement influencé positivement par la dureté, le poids spécifique, les pentosanes, plusieurs allèles des gluténines HPM et FPM ainsi que par l'indice de polydispersité des polymères de gluténines et négativement par la teneur en protéines et plusieurs allèles des gluténines associés à l'extensibilité de la pâte.
- 2 - le volume du pain a augmenté avec la teneur en protéines, la dureté de l'albumen et lorsque le gluten était formé de sous unités gluténines connues pour être non associées à la force.
- 3 - Les polymères des gluténines furent très fortement influencés par les températures des mois de juin et juillet du lieu de culture.
- 4 - l'effet sur le P/L des variations des caractéristiques des polymères est opposé selon que les températures élevées se situent en juin ou en juillet.
- 5 - Le volume du pain fut négativement influencé par la taille des polymères.
- 6 - L'indice du gluten notamment ainsi que plusieurs allèles des gluténines peuvent être avantageusement utilisés pour approcher la prédiction du volume du pain qui reste cependant un paramètre peu héritable.
- 7 - La mise au point d'un protocole adapté du Mixolab par la société Chopin a permis d'exploiter les potentialités de ce nouvel instrument pour prédire les caractéristiques rhéologiques de la farine et avec une probabilité satisfaisante pour le volume du pain. La note totale en panification possède de nombreux autres paramètres qui n'ont pu que partiellement être clarifiés par cette expérimentation et nécessiteront une étude complémentaire.

1. Introduction

► Les objectifs

Les caractéristiques des blés fréquemment sélectionnés en Europe et spécialement en France font souvent apparaître une insuffisance d'extensibilité de la pâte, telle que mesurée à l'alvéographe. Ces blés ont généralement une pâte très tenace, il en résulte un déséquilibre du rapport P/L souvent

préjudiciable à une transformation satisfaisante en panification. On sait que la diversité des protéines de réserve ajoutée à la teneur en protéines et la dureté du grain permet d'expliquer près de 70 de la variabilité phénotypique de la force, mais est très insuffisante pour expliquer le volume du pain (Oury *et al*, 2010). Peu de travaux ont été conduits sur la recherche de marqueurs moléculaires (autres que ceux codant pour les protéines de réserve) associés au volume du pain (Law *et al*, 2005, Kuchel *et al*, 2006). Le volume du pain résulte de nombreux facteurs qu'il est nécessaire de préciser notamment en regardant les effets des allèles des protéines de réserve et de leur polymérisation. Les insuffisances d'extensibilité et le faible volume du pain sont deux défauts qui, s'ils sont présents dans un même cultivar, conduisent à son rejet lors de l'inscription au Catalogue. Les recherches ont été entreprises pour mieux cerner dans les constituants du grain et les propriétés de la farine, les variables qu'il convient de prendre en compte pour effectuer une sélection. Les objectifs ont été les suivants :

- 1 - approfondissement des bases biochimiques et moléculaires caractéristiques des blés à gluten extensible,
- 2 - approfondissement des caractéristiques biochimiques et technologiques des blés à pâte extensible,
- 3 - recherche des QTL impliqués dans la distribution des tailles de granules d'amidon,
- 4 - prédiction du volume du pain.

2. Matériel et Méthodes

L'étude a été conduite à partir de 40 génotypes par année. Les critères de choix de ces cultivars ont été :

- 1 - avoir une bonne productivité,
- 2 - appartenir à la classe des BP et BPS, seuls quelques BAU et BB ont été retenus,
- 3 - ne pas être de dureté extrême (très soft ou très hard),
- 4 - présenter entre eux de fortes différences d'aptitudes boulangères (en particulier sur le volume du pain) et de P/L.

Les blés retenus et présentés Tableau 1, ont été expérimentés en essais randomisés (deux répétitions en mode conventionnel et protection phytosanitaire) dans cinq lieux en France. Trois lieux (1 Club5, 1 CETAC et 1 INRA) ont été retenus, par année, après récolte sur la base des observations en végétation et de variables (protéines, dureté, PS, PMG, Hagberg).

Les mesures suivantes ont été effectuées :

Par l'Inra de Clermont Ferrand :

Diversité génétique des gluténines de haut et faible poids moléculaire (Branlard *et al*, 2003)

Caractéristiques physiques : PMG (AFNOR NF V 03-702) ; PS (mesure au Nilema) ; Mesure % protéines et dureté du grain par spectrométrie dans le proche infrarouge : Méthodes respectivement AACC 39-10 et AACC 39-70A.

Viscosité des pentosanes (mesure de la viscosité AFNOR NF V 03-749) ; Temps de chute d'Hagberg (AFNOR NF V 03-703), Extraction des granules d'amidon selon Bancel *et al*, (2010) et détermination des proportions des types A, B et C, à l'aide du granulomètre laser Malvern Mastersizer 2000 E (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK)

Préparation des moutures complètes au moulin laboratory mill 3100 (Perten Instruments, Springfield, USA) pour Momont, Arvalis, l'IPL Beauvais.

L'analyse par HPLC des sucres solubles dans l'éthanol (Méthode Inra Clermont Fd)

Par la SARL Adrien Momont et Fils :

Extraction et mesure des caractéristiques du gluten au glutomatic (Perten Instruments, Springfield, USA)

Arvalis-Institut du végétal :

Teneur en protéines et dureté des grains par spectrométrie dans le proche infrarouge ,

Détermination des fractions protéiques par HPLC d'exclusion de taille,

Année 1: 2008 2009						Année 2: 2009 2010					
Obt	Variété	P/L	dur	das	volume	Obt	Variété	P/L	dur	das	volume
1	CS SOLLARIO	très élevé	MH	BPS	moyen	CS SOLLARIO	très élevé	MH	BPS	moyen	
2	Ra CAPHORN	élevé - elast.	MH	BPS	bon	Ra CAPHORN	élevé - elast.	MH	BPS	bon	
3	Un EXCELSIOR	élevé	MH	BPS	moyen	Os SOBBEL	assez élevé	MH	BP	Ass. Bon	
4	Ra AREZZO	élevé	MH	BP	moyen	Os SOBALD	équilibré	MS	BP	moyen	
5	Mh ANDALOU	élevé	MH	BP	faible	Ld ALBIANO	élevé	MH	BPS	moyen	
6	Ra PREMIO	assez élevé	MH	BPS	moyen	Ld ROCHEFORT	élevé	hard	BP	Ass. Bon	
7	Un COMODOR	assez élevé	MH	BPS	bon	Mh KALYSTAR	équilibré	hard	BPS	bon	
8	Mh SOLIHO	assez élevé	MH	BPS	moyen	Mh PROXY	élevé	MH	BP	moyen	
9	Su TIMBER	assez élevé	MH	BPS	moyen	Su TIMBER	assez élevé	MH	BPS	moyen	
10	Un DINOSOR	équilibré	hard	BPS	moyen	Un DINOSOR	équilibré	hard	BPS	moyen	
11	Sc CAMPERO	équilibré	MH	BPS	bon	Ra ADAGIO	élevé	hard	BPS	Ass. Bon	
12	Mh SELEKT	équilibré	MH	BPS	bon	Ra RAZZANO	élevé	hard	BPS	moyen	
13	LvH APACHE	équilibré	MH	BPS	bon	LvH APACHE	équilibré	MH	BPS	bon	
14	Ld AEROBIC	équilibré	MH	BPS	bon	Ld AEROBIC	équilibré	MH	BPS	bon	
15	Os SORRIAL	équilibré	MH	BPS	bon	Sc FLAUBERT	assez élevé	hard	BPS	bon	
16	Su HYSTAR	bas à exten.	MS	BP	faible	Sc PREVERT	assez élevé	hard	BPS	moyen	
17	Ra SANKARA	bas	hard	BPS	moyen	Ra SANKARA	bas	hard	BPS	moyen	
18	Ra MENDEL	bas	MH	BPS	bon	Su CHEVRON	élevé	MH	BAU	moyen	
19	Ra HEKTO	bas	MH	BP	bon	Su TIMING	assez élevé	hard	BP	Ass. Bon	
20	Su BOISSEAU	bas à exten.	MH	BP	moyen	Su MIROIR	équilibré	soft	BP	faible	
21	Mh GALBIER	bas à exten.	MH	BAF	faible	Un AMADOR	long	MS	BPS	moyen	
22	Un SPONSOR	bas	soft	BP	faible	Un ALIGATOR	élevé	MH	BPS	très bon	
23	Sc PALEDOR	bas	soft	BB	faible	Un TRAPEZ	élevé	MH	BP	moyen	
24	Sc GALOPAIN	bas à exten.	MS	BPS	faible	Sc GALOPAIN	bas à exten.	MS	BPS	bon	
25	LvH ARLEQUIN	bas à exten.	MH	BPS	bon	LvH ATTITUDE	élevé	MH	BPS	bon	
26	LvH ALIXAN	moy- élevé	MH	BPS	bon	LvH ARAMIS	moyen	hard	BP	bon	
27	LvH ALTIGO	moyen	MH	BP	moyen	LvH ALTIGO	moyen	MH	BP	moyen	
28	SR SEBASTO	assez élevé	MH	A	bon	SR GONCOURT	assez élevé	hard	BPS	bon à T.B	
29	SR PEPIDOR	équilibré	MS	BP	moyen	SR PEPIDOR	équilibré	MS	BP	moyen	
30	SR BOREGAR	équilibré	MS	BP	Ass. Bon	SR AZZERTI	faible	MS	BAU	faible	
31	FD BERMUDE	assez élevé	MH	BPS	bon	FD FD 06012-9	assez élevé	MH		bon	
32	FD ALDRIC	équilibré	MH	BPS	bon	FD ALDRIC	équilibré	MH	BPS	bon	
33	FD BOKARO	bas à exten.	MS	BPS	moyen	FD FD 06074	élevé	MH		bon à T.B	
34	SY OCB-INGENIO	tenace	Hard	BPS	Ass. Bon	SY PLAYER	tenace	hard	BP	faible	
35	SY INSTINCT	bas à exten.	MH	BPS	moyen	SY ILLICO	bas	MH	BP	faible	
36	SY INNOV	bas à exten.	MS	BB	bon	SY INNOV	bas à exten.	MS	BB	bon à T.B	
37	INRA SKERZZO	équilibré	MH	BPS	bon	INRA CF05079	tenace	hard		bon	
38	INRA GHAYTA	équilibré	Hard	BAF	bon	INRA LYRIC	tenace	MH	BP	bon	
39	INRA HENDRIX	équilibré	Hard	BPS	faible	INRA RED6134	équilibré	soft		bon	
40	INRA KORELJ	assez élevé	hard	BPS	faible	INRA KORELJ	assez élevé	hard	BPS	faible	

Tableau 1 : Quelques caractéristiques des variétés expérimentées les deux années en 10 lieux en France

Réalisation des farines (CD1 auto) et sur ces farines réalisation de : l'Alvéographe Chopin (NF EN ISO 27971), l'analyse du comportement rhéologique en double contrainte de pétrissage et de chauffe au Mixolab Chopin, la Panification BIPEA (NF V 03-716).

Par l'Institut Polytechnique La salle Beauvais :

Extraction des protéines et détermination de la distribution de la taille et de la masse des polymères par AFFFF-MALLS (Lemelin *et al*, 2005a).

Par Chopin technologies :

Prédiction du comportement rhéologique à l'Alvéographe et en panification à l'aide du Mixolab selon un protocole rapide mis au point par la société, sur deux types de produits (farine préparée par Arvalis, et mouture intégrale préparée par Chopin).

Les mesures réalisées avec les 14 tests de technologies ont fournis 120 paramètres ou variables de technologie. Les analyses statistiques (ANOVA, héritabilité, corrélation) ont été réalisées avec chacun de ces paramètres. L'approche des caractères d'intérêt - pour l'alvéographe ténacité **P**, extensibilité **L** ou gonflement **G** et **P/L** et pour la panification **volume du pain** - a été conduite par des régressions multiples par lieu et par régression PLS en prenant l'ensemble des données sur les deux années avec un échantillonnage aléatoire de 50% des génotypes pour validation.

3. Résultats

► La variabilité technologique fut fortement influencée par le milieu et les génotypes

Les 40 variétés cultivées chaque année avaient été choisies sur la base de leurs aptitudes technologiques : absence de « very soft » et de « very hard » (soft 12%, MHard 46% et Hard 42%), ayant un P/L très bas <0.3 à P/L >3 et un volume du pain allant de très faible <1200 à >1800 cm³. Seulement 13 variétés sont communes aux deux années d'expérimentation. Les 67

variétés présentent une diversité allélique, des sous-unités de haut et de faible poids moléculaires des gluténines, très élevée. Au total 28 allèles ont été dénombrés aux six loci des gluténines (Tableau 2) sur ces 67 génotypes, dont 90% ont été proposés par les 11 établissements privés de sélection participant à cette étude.

<i>Glu-A1</i>	1, 2*, n	3
<i>Glu-B1</i>	6-8, 7, 7-8, 7-9, 13-16, 14-15, 6.1-22, 17-18,	8
<i>Glu-D1</i>	2-12, 3-12, 4-12, 5-10,	4
<i>Glu-A3</i>	a, d, ef,	3
<i>Glu-B3</i>	b, b', c, c', d, f, g, j,	8
<i>Glu-D3</i>	b, c, b/c	2

Tableau 2 : La diversité des allèles des gluténines HPM et FPM des blés analysés se retrouvent dans la majorité des blés mondiaux

Les caractéristiques des grains et des farines ont été mesurées à l'aide de 14 tests apportant au total 120 variables physicochimiques et technologiques mesurées sur les 240 échantillons des deux années de récolte. Les valeurs phénotypiques observées révèlent une très grande variation pour la totalité des paramètres ; par exemple: %protéines de 9,0 à 14,9, gluten index de 8,9 à 99,5, W de 64 à 400, ténacité P de 33 à 156, gonflement G de 14,1 à 31,1 P/L de 0,22 à 3,68, volume du pain de 1024 à 1941. Les mesures sur la plupart des paramètres ont été significativement influencées par les lieux et l'année de l'essai mais aussi par les génotypes (Tableau 3).

Les effets génétiques sont généralement très hautement significatifs pour les paramètres usuels PMG, PS, dureté, Hagberg, Gluten, viscosité des pentosanes, Alvéographe, ainsi que pour le Mixolab. La distribution des tailles de granules d'amidon est aussi fortement influencée par le génotype. Les effets lieux (inclus avec l'année de culture) sont généralement très marqués pour les mêmes paramètres sur lesquels des effets génétiques ont été constatés. Les effets lieux ne sont pas significatifs pour de nombreuses notes effectuées en panification.

Paramètres	Moyenne	Minimum	Maximum	F _{Lieu} année	F _{Variété}	R ²	H ²
PMG	47.7	36.4	64.9	115.9***	17.4***	88.1	0.67-0.82
PS	79.5	73.4	83.9	62.4***	11.6***	82.1	0.34-0.66
Tps chute	371	188	452	17.1***	6.3***	67.5	0.35-0.67
Dureté	55.9	0.9	112.8	102.6***	28.1***	91.6	0.75-0.89
%Protéines	11.5	9.0	14.9	453.1***	7.32***	90.8	0.21-0.44
Gluten Index	80.4	8.9	99.5	81.3***	4.84**	72.3	0.38-0.54
Amidon Type A	81.3	70.3	93.3	12.3***	7.2***	69.6	0.58-0.66
Visco. Réelle	2.00	1.35	3.18	69.2***	21.4***	89	0.78-0.83
AFFFF Mw2	1.4E+07	5.4E+06	4.9E+07	34.4***	6.2***	70	0.17
W	203.0	64.0	400.0	120.2***	10.1***	83.7	0.40-0.73
G	20.1	14.1	31.1	242.4***	18.5***	90.9	0.54-0.66
P	77.1	33.0	156.0	88.4***	20.6***	89	0.75-0.80
P/L	1.11	0.22	3.68	57.4***	14.2***	84.5	0.60-0.77
volume Pain	1551	1024	1941	20.7***	3.1**	50.8	0.24-0.44
note totale Panif	246	124	281	6.3***	2.6**	38.90	0.20-0.47
HPLC%F2	23.8	17.9	27.4	5.8**	12.8***	80.3	0.71-0.90
Mixolab C2	0.53	0.40	0.67	26.4***	11.2***	79.6	0.73-0.86
Mixolab Rapid C2	0.92	0.58	2.41	2.7*	4.1**	51.9	0.69

Tableau 3 : Statistiques descriptives sur les 240 échantillons de blés, F_{Lieu}, F_{Variété} et R² du modèle de l'ANOVA, et héritabilité H² pour seulement 18 paramètres étudiés dont le P/L et le volume du pain.

Les paramètres de ténacité, d'extensibilité et de volume du pain sont tous fortement influencés par le génotype et le milieu. L'estimation de la part du génotype dans la variance phénotypique a été calculée, en supposant une répartition aléatoire des cultivars, à l'aide de la procédure Varcomp de SAS. L'héritabilité au sens large H^2 nous permet d'approcher l'influence que peut avoir la sélection en utilisant l'un ou l'autre de ces paramètres. Comme attendu très peu de paramètres révèlent une héritabilité forte ($H^2 > 0.7$). Ceux bien connus comme le PMG, la dureté, la viscosité des pentosanes, la ténacité P, mais apparaît aussi le P/L. Nous observons aussi une forte héritabilité pour le paramètre %F2 obtenu dans la séparation des protéines par HPLC et le C2 du Mixolab. Plusieurs des mesures effectuées se sont révélées comme reflétant bien l'effet génétique indiqué par l'ANOVA et confirmé par une héritabilité relativement élevée (0.5 à 0.69). Ce fut le cas des granules d'amidon A et B, du C3 du Mixolab, du gonflement G, de la fraction HPLC %F1 et la note de pâte en panification. La majorité des autres notes en panification répondent peu à une influence génétique et les valeurs obtenues sont souvent faiblement héritables. Notre analyse confirme une fois de plus que le volume du pain est un caractère peu héritable ainsi que les notes d'extensibilité en panification. Par contre les notes d'allongement et de section en panification semblent mieux refléter l'influence génétique.

Les comparaisons multiples entre variétés ont été effectuées par année et pour les deux années d'expérimentation. Les deux rapports, de l'année 1 et 2, ont présenté ces comparaisons multiples pour une trentaine de paramètres et bien évidemment pour le P, G, P/L et le volume du pain. Nous nous limiterons à ne donner ici que les variétés observées dans les groupes extrêmes, obtenus sur les valeurs moyennes dans les deux années, et classées par ordre croissant.

Pour l'alvéographe :

- $W < 150 \times 10^{-4} J$: Sponsor (W=103), Paledor, Innov, Hystar, Trapez, Boisseau, Pepidor, Chevron et Timber (W=148).
- $W > 250 \times 10^{-4} J$: Caphorn (W=267) CF05079, Aerobic, Hendrix, Excelsior, Skerzzo, CCB Ingenio, Ghayta, Galibier (W=349).
- $P < 60 mmH_2O$: Sponsor (P=43), Innov, Sobald, Paledor, Azzerti, Sankara, Boisseau, Hystar, RE06134, Pepidor, Bokaro, Aramis et Miroir (P=59).

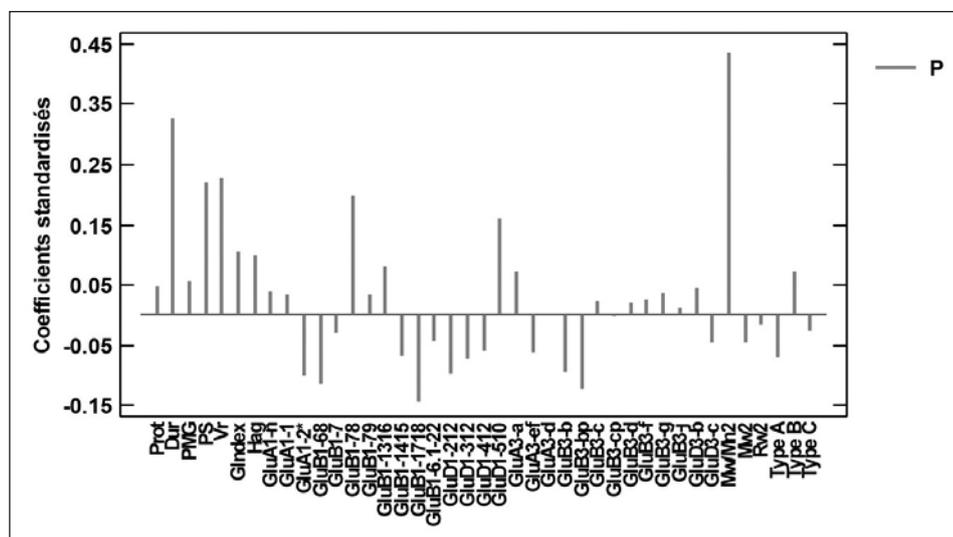


Figure 1 : Coefficients standardisés obtenus dans l'analyse de régression PLS de la ténacité P avec comme variables explicatives le %protéine du grain, la dureté, le PMG, le PS, la viscosité relative des pentosanes, le gluten Index, le temps de chute d'Hagberg, les 28 allèles des gluténines HPM et FPM, trois paramètres des polymères des gluténines et la proportion des trois types de granules d'amidon. Le pourcentage de la variation phénotypique P expliquée par le modèle est $R^2=0,75$.

- $P > 100 mmH_2O$: Caphorn (P=102), Arezzo, Adagio, Sollario, Illico, Proxy, Razzano, Galibier, Koreli, Ghayta, CF05079, Player (P=121).
- $G < 16$: Sollario (G=13,2), Proxy, Player, Chevron, Andalou, Razzano, Trapez, Rochefort, Premio, Koreli (G=15,7).
- $G > 22$: RE06134 (G=22,1), Boisseau, Aerobic, Innov, Azzerti, Hekto, Sobald, CCB-Ingenio, Apache, Sankara, Instinct, Skerzzo (G=26,3).
- $P/L < 0.7$: Sobald (P/L=0,45), Innov, Azzerti, Sankara, RE06134, Instinct, Aramis, Apache, Sponsor, Boisseau, Hekto, Skerzzo (P/L=0,65).
- $P/L > 2$: Trapez (P/L= 2,01), Attitude, Rochefort, FD06074, CF05079, Chevron, Lyric, Koreli, Razzano, Sollario, Proxy, Player (P/L=3,5).

Pour la panification :

- **Volume < 1400 mL** : Andalou (V=1284), Sobald, Proxy, Razzano, Azzerti, Miroir, Adagio (V=1397).
- **Volume > 1600 mL** : Sorrial (V=1604), Innov, Aerobic, Hekto, Aliogator, RE06134, Mendel, Comodor, FD06074, Sebasto, Ghayta, Caphorn, Exelcior, Bermude, Selekt, Campero (V=1819).

► Principaux facteurs impliqués dans la variation du P, du G, du P/L et du volume

L'analyse de l'ensemble des données technologiques produites à partir des 240 échantillons de blés incluant l'identification des allèles des gluténines à la mesure des masses de polymères fait ressortir plusieurs points importants concernant les paramètres associés (positivement ou négativement) aux caractéristiques de ténacité, d'extensibilité de la pâte, de P/L et de volume du pain.

La ténacité P augmente avec la dureté du grain, le PS, la viscosité relative des pentosanes, mais peu avec la teneur en protéines. La mesure alvéographique étant conduite à hydratation constante, il apparaît logique que les deux variables diminuant la disponibilité de l'eau dans la pâte, - c'est-à-dire le pourcentage d'amidon endommagé pour la dureté et la viscosité des arabinoxylanes (molécules très hydrophiles) - ressortent comme associées à la ténacité. On constate également, dans les différentes analyses PLS effectuées, que la mesure du Gluten Index et aussi plusieurs variables du Mixolab permettent de bien approcher la ténacité P.

La ténacité est aussi significativement influencée par plusieurs allèles des gluténines HPM et FPM. Les sous unités *Glu-B1* 7-8, et *Glu-D1* 5-10 et l'allèle *Glu-A3a* sont associés à une ténacité élevée. Les sous unités *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 14-15, et 17-18, *Glu-D1* 2-12 et 3-12 et les allèles *Glu-B3b* et b' sont associés à une plus faible ténacité. Mais nous constatons surtout l'effet majeur de l'indice de polydispersité des polymères des gluténines Mw/Mn2 dans l'accroissement de la ténacité.

Le Gonflement G ou Extensibilité L augmente avec la teneur en protéines ; ce résultat est bien connu mais nous observons ici que la teneur en protéines est le paramètre le plus influant sur la variation de l'extensibilité. Seuls quelques sous unités des gluténines sont favorables : *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 14-15, et 17-18, *Glu-D1* 2-12 et les allèles *Glu-B3b* et b' et *Glu-D3c*. Les sous unités favorables à la ténacité P (*Glu-B1* 7-8, et *Glu-D1* 5-10) sont logiquement défavorables à l'extensibilité. Les valeurs élevées de PS, de viscosité des pentosanes et dans une moindre mesure du temps de chute Hagberg semblent s'opposer à une forte extensibilité. Comme attendu, les valeurs élevées de ténacité ainsi que du Gluten Index influent négativement le G ou L. De même on relève qu'un faible indice Mw/Mn2 des protéines polymérisées est favorable à l'extensibilité (Figure 2). Contrairement à ce qui fut observé pour la ténacité, la proportion des granules d'amidon de type A ($\phi > 15$ microns), B ($2 < \phi < 15$) et C ($\phi < 2$ microns) ne semble pas influencer l'extensibilité de la pâte. Or on sait que la dureté du grain influe de manière significative sur le

volume total représenté par ces trois classes de granules : les blés de la classe « hard » ont des granules d'amidon de type A occupant un volume moins important et sont par contre mieux pourvus en granules de type B contrairement aux blés de type Soft . L'abondance relative des granules d'amidon et la granulométrie des particules de la farine, également associée à la dureté, ont une influence sur les propriétés d'écoulement et de viscosité de la pâte. On relève que c'est principalement la ténacité, et non l'extensibilité, qui est influencée par la dureté et ces proportions de granules d'amidon.

Le P/L équilibré (voisin de 0,7) est plus facilement obtenu avec une teneur en protéines relativement élevée plus favorable à l'extensibilité. Nous constatons aussi que des valeurs pas trop élevées pour le PS, la viscosité des pentosanes, ainsi qu'une dureté de type Soft et MHard, sont favorables à un P/L équilibré. En fait les valeurs élevées pour ces trois paramètres atténuent la part d'eau disponible pour l'hydratation du réseau glutineux en piégeant au cours du pétrissage une partie de l'eau apportée pour la mesure alvéographique conduite à hydratation constante. De plus les allèles des gluténines associés à l'extensibilité, dont les effets favorables ont été notés dès 2001, sont toujours validés dans cette expérimentation. Un P/L équilibré est plus facilement obtenu avec les sous unités *Glu-A1* 2*, *Glu-B1* 14-15, ou 17-18, *Glu-D1* 2-12 et les allèles *Glu-B3b* ou b' et un indice de polydispersité des polymères faible qu'avec les sous unités *Glu-B1* 7-8, et *Glu-D1* 5-10 et un indice Mw/Mn2 élevé (Figure 3).

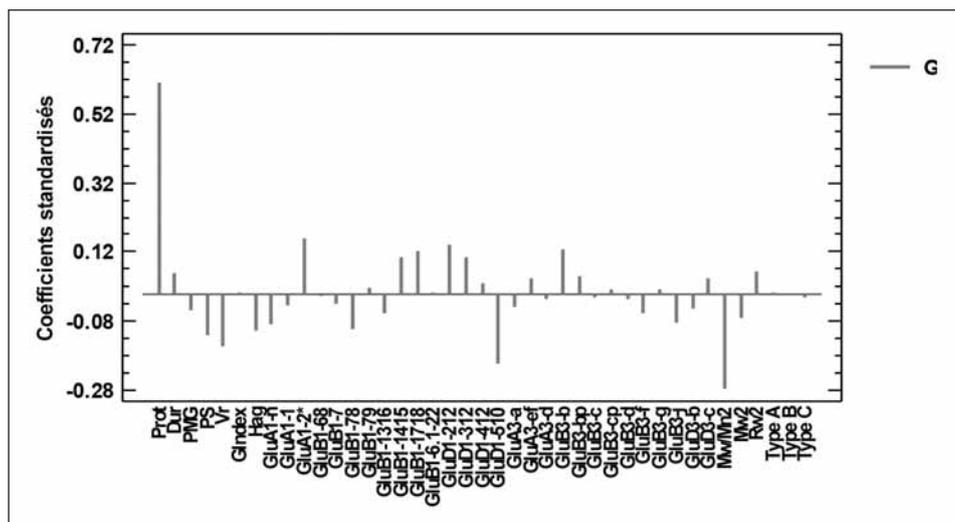


Figure 2 : Coefficients standardisés obtenus dans l'analyse de régression PLS du gonflement G en utilisant les mêmes variables explicatives que pour la ténacité (Figure 1). Le pourcentage de la variation phénotypique G expliquée par le modèle est $R^2=0,79$.

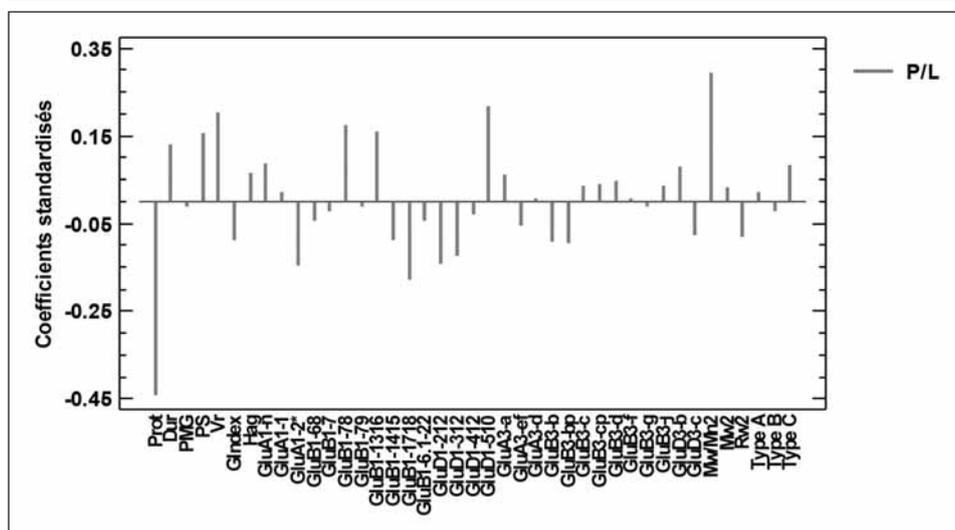


Figure 3 : Coefficients standardisés obtenus dans l'analyse de régression PLS du P/L en utilisant les mêmes variables explicatives que pour la ténacité et le gonflement G (Figure 1 et 2). Le pourcentage de la variation phénotypique P/L expliquée par le modèle est $R^2=0,58$.

Nous avons observé que l'effet de la somme des températures de ces deux mois a induit une augmentation significativement plus élevée de la masse des polymères Mw2 pour les Soft que pour les Hard (Lesage *et al*, 2012b). Ainsi les blés Hard ont montré sur les 6 lieux d'expérimentation une augmentation de masse de polymères allant en moyenne de 9 à 21 106 Da alors qu'elle variait de 13 à 32 106 Da pour les Soft.

Pour comprendre cet ensemble rappelons que, malgré les différences de précocité entre cultivars, l'accumulation des protéines dans le grain se produit en presque totalité au cours du mois de juin en France. Une température élevée au cours de ce mois (au delà de 32 °C l'accumulation des gluténines est fortement ralentie au profit des gliadines), causera donc une diminution de la masse des polymères Mw2, de l'indice Mw/Mn2, de la ténacité et aussi une augmentation de l'extensibilité : ce que nous observons. L'analyse protéomique nous indique aujourd'hui qu'il y aurait dans l'albumen des Hard un arrêt plus précoce de l'accumulation des réserves protéiques (et peut être amylicée ?) par rapport aux Soft, en réponse au stress thermique. Les blés de type Soft poursuivent l'accumulation des protéines qui atteignent des masses considérables. Les températures très élevées de Juillet n'affectent pas ou vraisemblablement peu la synthèse des protéines de réserve qui est bien avancée fin juin. Les températures élevées de juillet vont donc précipiter la déshydratation du grain et révèlent une ténacité plus forte en raison de la masse des polymères qui augmenta, notablement chez les blés Soft.

La difficulté d'approcher le Volume du pain (R^2 du modèle : 0,53, Figure 4) tient d'abord au fait que ce paramètre majeur de la panification est peu héritable ($H^2 < 0,45$). On peut donc espérer tout au plus que les effets additifs des variables de type mendélien, (allèles des protéines de réserve), qui expliquent ici 18% de la variabilité phénotypique du Volume du pain, puissent contribuer à expliquer 40% de la variance génétique de ce caractère. On sait en effet que d'autres locus sur le génome (par exemple QTL sur 2A et 3A, Kutcher *et al*, 2006) ont été associés, par l'analyse de descendance, au volume de pain (panification sur 100g de farine). Nous avons vu que la teneur en protéines du grain, la dureté, le poids spécifique les pentosanes ainsi que le Gluten Index expliquaient près de 31% de la variance phénotypique du Volume.

Contribution possible des sucres simples

En plus de l'effet des allèles des protéines de réserve et de la taille des polymères, il est apparu souhaitable d'examiner la variabilité des sucres simples. L'analyse des sucres simples par HPLC conduite à l'Inra de Clermont Fd sur les 120 échantillons de la première année d'expérimentation nous a apporté d'utiles compléments d'information. Bien qu'en faible concentration dans les blés analysés, (généralement <1 mg/g MS sauf pour le saccharose allant de 0,7 à 4.2 mg/g MS), leur variation a été très significativement influencée par le lieu de culture (en 2009 dans les départements 28, 60 et 78) et par les variétés expérimentées. Sur les huit sucres dosés, l'analyse PLS met en évidence un effet favorable de l'Inositol ($C_6H_{12}O_6$) et un effet négatif des teneurs en fructose et saccharose sur le Volume du pain. En intégrant ces mesures des sucres le modèle explique 64% de la variance phénotypique du Volume du pain. Il est en effet bien connu que la disponibilité de certains sucres simples comme l'activité de plusieurs hydrolases influence la fermentation et le gonflement du pain.

Mais le Volume n'est qu'un paramètre de la Note Totale en panification qui fit aussi l'objet de recherches. Pour un lieu donné la Note Totale en panification est toujours significativement associée au Volume du pain, mais la relation n'excède pas $R^2=0,45$. D'autres notations réalisées au cours du test de panification permettent de préciser les facteurs impliqués dans leur variation. Bien que ces notations soient peu liées aux différences variétales, les données accumulées constituent une base de phénotypage particulièrement importante pour, ultérieurement, en faire apparaître les causes moléculaires puis génétiques.

► Prédiction du comportement rhéologique à l'Alvéographe et en panification à l'aide du Mixolab selon un protocole rapide

Pour les semenciers, il est important de connaître les propriétés des blés le plus tôt possible dans le processus de sélection des nouvelles variétés. Dans le cadre de ce programme FSOV, CHOPIN Technologies a développé une méthode rapide utilisant le Mixolab pour répondre à cet objectif. Le Mixolab est un appareil permettant d'analyser le comportement rhéologique d'une pâte soumise à des contraintes de pétrissage et de variation de la température.

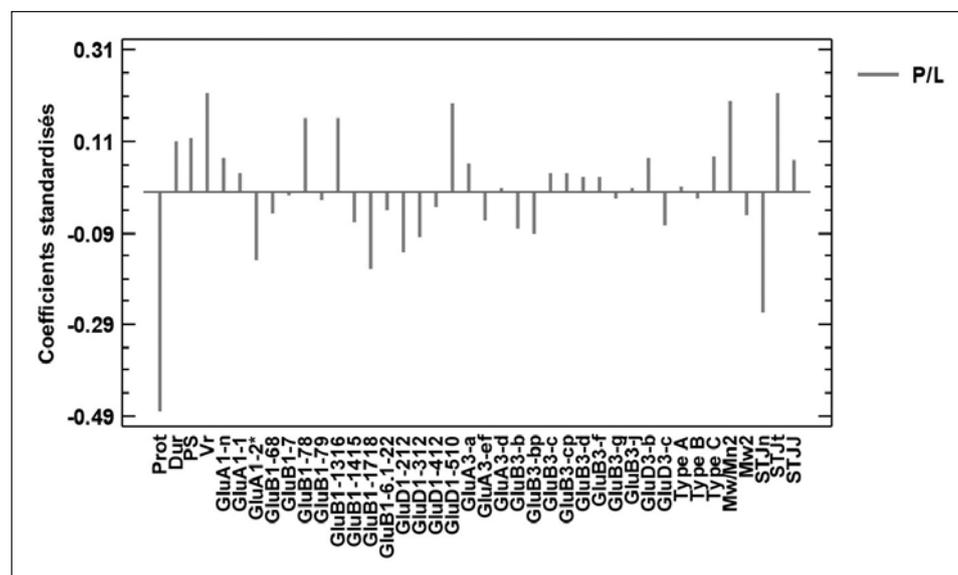


Figure 5 : Coefficients standardisés obtenus dans l'analyse de régression PLS du P/L en utilisant les variables explicatives suivantes : le %protéine du grain, la dureté, le PS, la viscosité relative des pentosanes, les 28 allèles des gluténines HPM et FPM, la proportion des trois types de granules d'amidon ainsi que les sommes des températures moyennes de juin et de juillet et la somme totale sur ces deux mois. Le pourcentage de la variation phénotypique du P/L expliquée par le modèle est $R^2=0,65$

Les informations issues de cette analyse sur pâte réelle permettent de prédire les paramètres alvéographiques et de panification. L'objectif de cette étude est de déterminer des modèles de prédiction pour ces paramètres avec un protocole rapide et une quantité de blé la plus faible possible.

Au total 270 échantillons de blés, provenant de différents lieux de cultures et de 3 années de récoltes (2009 à 2011) ont été broyés et analysés au Mixolab grâce à un protocole FSOV de 20 min et 50 g de blé broyé. Ces blés, référencés par Arvalis Institut du Végétal, couvrent une large gamme de valeurs alvéographiques et de panification. 240 échantillons ont été utilisés pour développer les modèles de prédiction de l'Alvéographe (W, P, G P/L) et de la panification (volume, hydratation, notes de panification). Les 30 échantillons supplémentaires, produits en 2011, ont permis de valider les modèles ainsi obtenus. L'étude mathématique de la courbe obtenue avec le Mixolab (Figure 6), permet de mettre en place des équations de régression multi-paramètres pour calculer les valeurs alvéographiques et de panification des échantillons testés. Pour chaque paramètre, les résultats sont présentés dans les Tableaux 4 et 5. Concernant les paramètres de l'Alvéographe, entre 64 et 72% des échantillons de validation sont prédits dans les limites de l'incertitude de la méthode de référence. Pour les paramètres de panification, entre 70 et 100% des échantillons sont prédits dans les limites de l'incertitude de la méthode de référence (Tableau 5).

	W	G	P	PsL	
Nombre prédicteurs	11	11	11	11	
Etendue des valeurs de référence	72 - 366	11,4 - 30,4	41 - 128	0,26 - 2,89	
Ecart prédiction/ref (valeur absolue)	Max	63,22	6,02	34,6	1,16
	Moyen	22,88	1,96	11,02	0,36
	Median	22,53	1,6	8,2	0,27
% prédiction dans les limites d'incertitudes de la méthode	66%	72%	70%	64%	
Limites d'incertitudes de la méthode	± 15%	± 2,5	± 19%	± 35%	
Tolérance pour obtenir 80% de bonnes prédictions	± 20%	± 3	± 24%	± 42%	

Tableau 4 : Synthèse des résultats obtenus pour les prédictions alvéographiques

En intégrant les données de dureté et de teneur en protéines (obtenues grâce à un spectrophotomètre proche Infra-rouge), dans les prédicteurs des modèles de l'Alvéographe, ou en utilisant une matrice de farine blanche, les performances des modèles sont améliorées (augmentation du pourcentage de prédiction dans les limites de l'incertitude de la méthode, diminution des écarts entre valeurs de référence et prédiction).

En résumé, la prédiction des paramètres alvéographiques et de panification par une méthode alternative en 20 min à partir de blé broyé (50 g au maximum) au Mixolab est possible. Pour des résultats encore plus performants, l'utilisation des valeurs de dureté et teneur en protéines ou de farine blanche peut être envisagée.

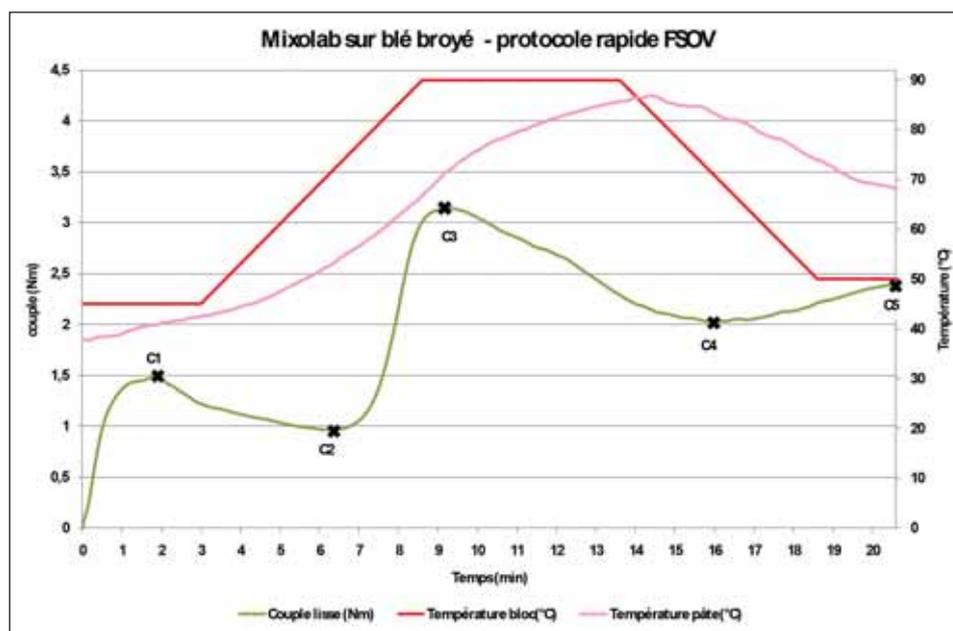


Figure 6 : Courbe Mixolab - protocole FSOV (20 min et 50g blé broyé)

	Volume	Hydratation	Note de pâte	Note de mise	Note de pain	Note totale	
Nombre prédicteurs	11	11	11	11	11	11	
Etendue des valeurs de référence	1155-1826	56,6 - 63	48 - 97	82 - 100	12 - 87	142 - 261	
Ecart prédiction/ref (valeur absolue)	Max	270	3,11	30,04	9,35	47,9	74,6
	Moyen	87,28	0,92	8,58	3,82	14,27	22,7
	Median	54,07	0,71	5,83	3,44	12,06	14
% prédiction dans les limites d'incertitudes de la méthode	93,30%	96,50%	88%	100%	70%	73,50%	
Limites d'incertitudes de la méthode	± 226	± 2,7	± 17,2	± 11,2	± 18,6	± 31,4	
Tolérance pour obtenir 80% de bonnes prédictions	± 170 cm ³	± 1,5	± 14	± 6	± 20	± 35	

Tableau 5 : synthèse des résultats obtenus pour les prédictions de panification.

► Quelques résultats sur la proportion des granules d'amidon

L'amidon représentant environ 65 à 72% de la masse du grain, il était nécessaire d'examiner l'influence de la proportion en volume des granules d'amidon de type A, B et C sur les paramètres P/L et Volume du pain mais aussi d'aborder leur déterminisme génétique. Les proportions des granules de type A et B ont présenté pour chacune des deux années une bonne héritabilité (H^2 voisin de 0.6) tandis que les granules de type C se sont révélées peu héritables ($H^2=0.4$). Une part de ces variations résulte de l'influence de la dureté qui, lorsque l'albumen est Hard, diminue le volume occupé par les A et augmente la proportion des B. Mais d'autres gènes sont impliqués dans la variation de ces proportions. L'analyse de génétique quantitative nous a permis de déceler des meta-QTL (QTL communs à plusieurs populations) pour les différents types de granules phénotypés sur les populations Renan x Recital et Apache x Ornicar. Les QTL identifiés sont localisés sur les chromosomes 1A et 2A (granules de type C), 3B (granules de type A et B) et 6B (granule de type B). Ces résultats qui seront précisés viennent en complément d'une analyse de la descendance (Syntetic x Opata), très éloignée des blés cultivés, qui avait révélé un QTL majeur sur 7As pour les granules de type B (Igrejas *et al*, 2002). La variation de ces proportions n'a pas influencé l'extensibilité de la pâte ni le Volume du pain. Mais les proportions de ces granules répondent à l'influence de la dureté et leur effet semble se révéler aussi sur la ténacité.

4. Conclusion

La variabilité génétique des cultivars et les essais réalisés ont fournis une large variation des caractères P/L et Volume du pain. Ces deux caractères sont très faiblement liés, mais plusieurs variables facilement mesurables et/ou très héritables sont désormais à privilégier pour améliorer la valeur en panification. Pour mieux maîtriser la ténacité, l'extensibilité et le P/L, les paramètres de Teneur en Protéines, Dureté (MHard), Poids Spécifique sont à considérer. Les allèles des gluténines associés à l'extensibilité sont à privilégier.

Le Volume du pain est un caractère peu héritable. Cependant en plus des paramètres précédents il est souhaitable pour améliorer le volume :

- 1 - de prendre en compte la viscosité relative des pentosanes (qui peut avantageusement être augmentée)
- 2 - d'exclure les allèles associés à une plus forte ténacité (et notamment *Glu-A3a*).

Cette étude a fait apparaître les caractéristiques des polymères des gluténines comme fortement influencées par la température au cours de l'accumulation des réserves dans le grain. Ces polymères sont à prendre en considération dans l'analyse du comportement en panification. Une variabilité génétique existe, notamment pour leurs caractéristiques dimensionnelles qu'il conviendra d'explorer si l'on veut obtenir une meilleure stabilité de la valeur d'utilisation.

Enfin le test du Mixolab offre, notamment par le protocole rapide mis au point dans cette étude, de réelles possibilités d'approcher en sélection la valeur phénotypique du volume du pain.

Références bibliographiques

AACC, Chemists. 1995 Approved method of the AACC. Saint Paul, MN USA American Association of Cereal Chemists, Approved methods of the AACC, ninth ed. (1995) The American Association of Cereal Chemistry, St Paul, MN

Bancel E., Rogniaux H., Debiton C., Chambon C., Branlard G. (2010). Extraction and proteome analysis of starch granule-associated proteins in mature wheat kernel (*Triticum aestivum* L.). Journal of Proteome Research 9, 3299-3310.

Branlard G., Dardevet M., Amiour N., Igrejas G. (2003) Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Genetic Resources and Crop Evolution, 50, 669-679.

Igrejas G., Faucher B., Bertrand D., Guilbert D., Leroy P., Branlard G. (2002) Genetic analysis of the size of endosperm starch granules in a mapped segregating wheat population. J Cereal Sci., 2002; 35: 103-107.

Kuchel H., Langridge P., Mosionek L., Williams K., Jefferies S.P. (2006) The genetic control of milling yield, dough rheology and baking quality of wheat. Theor Appl Genet. 112(8). p.1487 - 1495.

Law C.N., Bhandari D.G., Salmon S.E., Greenwell P.W., Foot I.M., Cauvain S.P., Sayers E.J., Worland A.J. Novel genes on chromosome 3A influencing breadmaking quality in wheat, including a new gene for loaf volume, Lvl 1. J. Cereal Sci.: 41(3) 317-326.

Lemelin E., Branlard G., Salvo L., Lein V., Aussenac T., Daydé J. (2005b) Breadmaking stability of wheat flours : Relation between mixing properties and molecular weight distribution of polymeric glutenins. J. Cereal Sci. 42(3), 317-326.

Lemelin E., Aussenac T., Violleau F., Salvo L., Lein V. (2005a) Impact of Cultivar and Environment on Size Characteristics of Wheat Proteins Using Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation and Multi-Angle Laser Light Scattering. Cereal Chem 82, 28-33.

Lesage V.S., Bouchet B., Rhazi L., Elmorjani K., Branlard G., Marion D. (2011) New insight into puroindoline function inferred from their subcellular localization in developing hard and soft near-isogenic endosperm and their relationship with polymer size of storage proteins. J Cereal Sci. 53, 231-238.

Lesage V.S., Merlino M., Chambon C., Bouchet B., Marion D., Branlard G. (2012a) Major impacts of kernel hardness on protein folding, oxidative stress and developmental time in developing wheat grain of near-isogenic lines for kernel texture. J Exp Botany, 63(2), 1001-1011.

Lesage V.S., Rhazi L., Aussenac T., Meleard B., Branlard G. (2012b) Effects of HMW- & LMW-glutenins and grain hardness on size of gluten polymers. 11th International Wheat Gluten Workshop, Beijing 12-15 august 2012, In press.

Majoul-Haddad T., Bancel E., Martre P., Triboi E., Branlard G. (2013) Effect of short heat shocks applied during grain development on wheat (*Triticum aestivum* L.) grain proteome. J Cereal Sci. In press

Oury F.-X., Chiron H., Faye A., Gardet O., Giraud A., Heumez E., Rolland B., Rousset M., Trottet M., Charmet G., Branlard G. (2010) The prediction of bread wheat quality: joint use of the phenotypic information brought by technological tests and the genetic information brought by HMW and LMW glutenin subunits. Euphytica, 171. 87-109.