

Compréhension du rapport Ténacité/ Extensibilité et du volume du pain

Gérard BRANLARD

G. Branlard¹, B. Méléard², F.X. Oury¹ L.Rhazi³, N Boinot⁴
et les membres du Club⁵ et du CETAC⁶

- (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

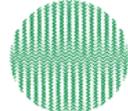
Partenaires

CETAC :

Essais multi-locaux
Glutomatic



Essais multi-locaux

INRA de Clermont-Ferrand :  **INRA**

Etude de caractéristiques physico chimiques des grains
Allèles des gluténines, Pentosanes , Granules d'amidon,
sucres simples,
Analyses statistiques

Protéines ,dureté, SE-HPLC,
Alvéographe ,Mixolab,
Panification BIPEA



IPLB :

Caractéristiques des polymers



Protocole Mixolab adapté



Quelques constatations

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.

Un déséquilibre du rapport P/L est 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

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

Objectifs

- 1- Approfondissement des bases biochimiques et moléculaires des caractéristiques des protéines du gluten**
- 2- Approfondissement des caractéristiques biochimiques et génétiques des blés à pâte extensible et à P/L équilibré**
- 3-Recherche des QTL impliqués dans la distribution des tailles de granules d'amidon**
- 4- Recherche de facteurs associés au volume du pain et prédiction du de la valeur en panification d'un blé**

Les variétés expérimentées

~3 cultivars / participant

Critères de choix

B. Panifiables

Variabilité pour:

Dureté

P/L

Extensibilité

Volume pain

Année 1: 2008_2009							Année 2: 2009_2010					
	Obt	Variété	P/L	dur	clas	volume	Obt	Variété	P/L	dur	clas	volume
1	CS	SOLLARIO	très élevé	MH	BPS	moyen	CS	SOLLARIO	très élevé	MH	BPS	moyen
2	Ra	CAPHORN	élevé - élastique	MH	BPS	bon	Ra	CAPHORN	élevé - élastique	MH	BPS	bon
3	Un	EXCELSIOR	élevé	MH	BPS	moyen	Cs	SOBBEL	assez élevé	MH	BP	moyen à bon
4	Ra	AREZZO	élevé - tenace	MH	BP	moyen	Cs	SOBALD	équilibré	MS	BP	moyen
5	Mh	ANDALOU	élevé	MH	BP	faible	Ld	ALBIANO	élevé	MH	BPS	assez faible
6	Ra	PREMIO	assez élevé	MH	BPS	moyen	Ld	ROCHEFORT	élevé	hard	BP	assez bon
7	Un	COMODOR	assez élevé	MH	BPS	bon	Mh	KALYSTAR	équilibré	hard	BPS	bon
8	Mh	SOLEIHO	assez élevé	MH	BPS	moyen	Mh	PROXY	élevé	MH	BP	assez faible
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	moyen à bon
12	Mh	SELEKT	équilibré	MH	BPS	bon	Ra	RAZZANO	élevé	hard	BPS	assez faible
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	Cs	SORRIAL	équilibré	MH	BPS	bon	Sc	FLAUBERT	assez élevé	hard	BPS	bon
16	Su	HYSTAR	faible à extensible	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	moyen à bon
20	Su	BOISSEAU	faible à extensible	MH	BP	moyen	Su	MIROIR	équilibré	soft	BP	faible
21	Mh	GALIBIER	faible à extensible	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	assez faible
24	Sc	GALOPAIN	faible à extensible	MS	BPS	faible	Sc	GALOPAIN	faible à extensible	MS	BPS	bon
25	LVH	ARLEQUIN	faible à extensible	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 très bon
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	faible à extensible	MS	BPS	moyen	FD	FD 06074	élevé	MH		bon à très bon
34	SY	CCB-INGENIO	tenace	Hard	BPS	Ass. Bon	SY	PLAYER	tenace	hard	BP	faible
35	SY	INSTINCT	faible à extensible	MH	BPS	moyen	SY	ILLICO	bas	MH	BP	faible
36	SY	INNOV	faible à extensible	MS	BB	bon	SY	INNOV	faible à extensible	MS	BB	bon à très bon
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	RE06134	équilibré	soft		bon
40	INRA	KORELI	assez élevé	hard	BPS	faible à moyen	INRA	KORELI	assez élevé	hard	BPS	faible à moyen

Les essais culturaux



Essai en conventionnel
2 Rep, 40 variétés, Random.
Observations en culture

Mesures sur 5 témoins
PMG,
Dureté
Protéines
Hagberg

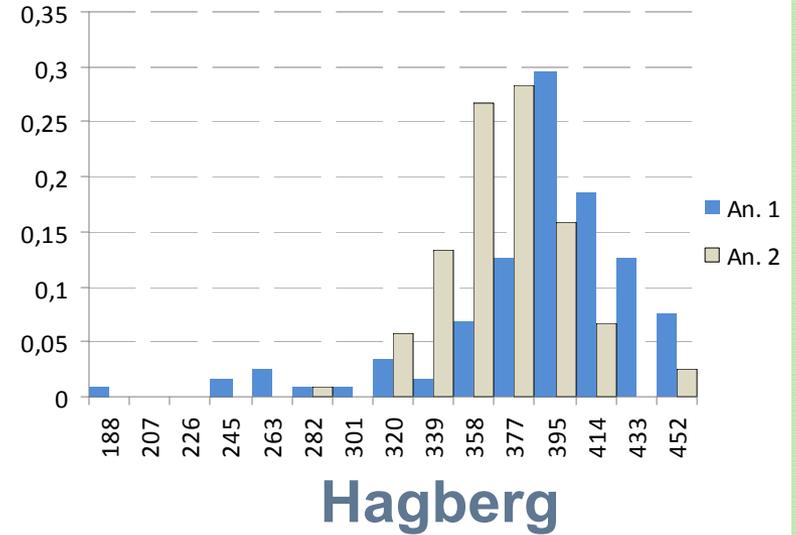
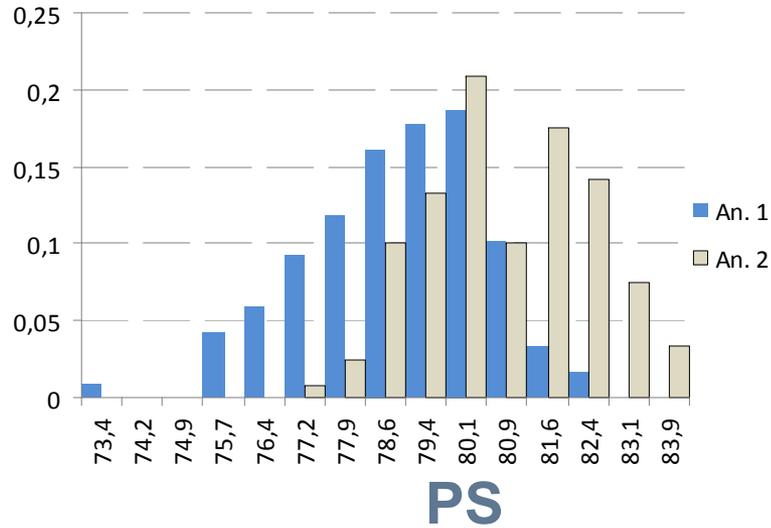
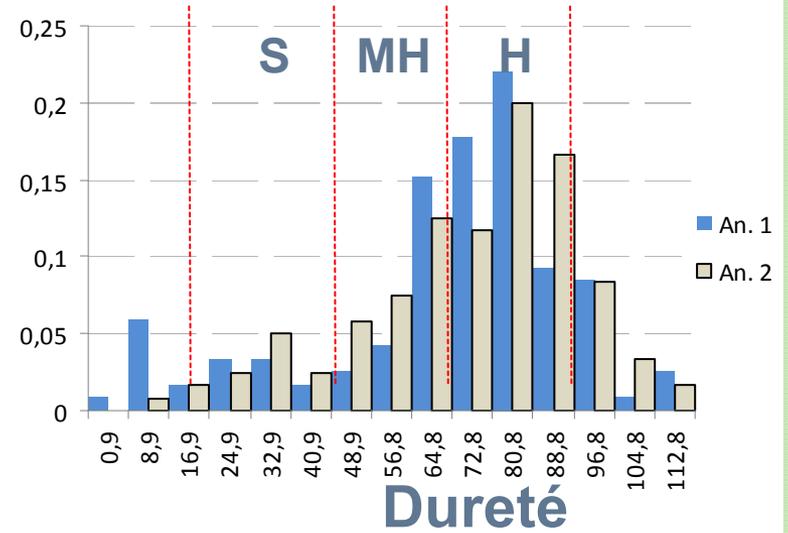
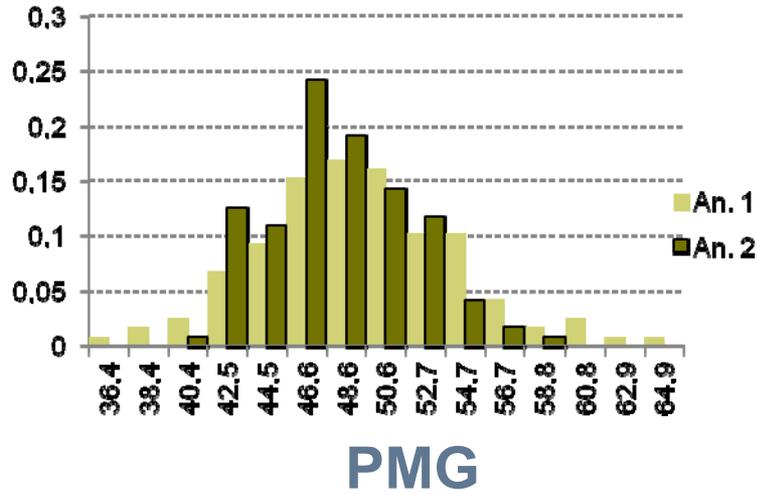
Année 2008-2009		
	Resp.	Dept
Momont et Fils	S Sunderwirth	28
Saaten Union	V Lein	60
Limagrain	J Stragliati	28
Syngenta	P Senellart	78
Inra	F X Oury	63

Année 2009-2010		
	Resp.	Dept
Caussade Semences	S Dutriez	28
Unisigma	P Lerebour	60
Desprez	T Demarquet	59
Serasem	J M Moreau	91
Inra	F X Oury	63

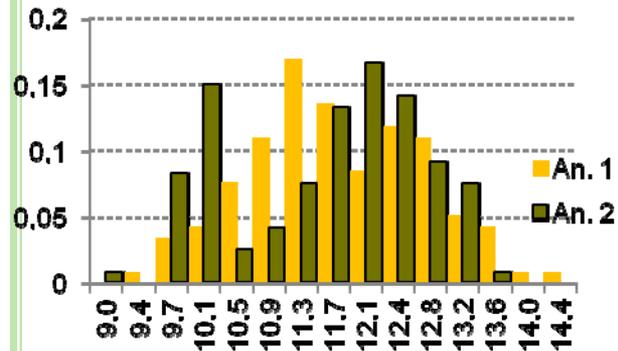
Les tests réalisés

Tests	Nb de paramètres	Réalisé par
Allèles / Glut.	3	Inra
PMG	1	Inra
PS	1	Inra
Dureté	1	Inra
%protéines	1	Inra
Hagberg	1	Inra
Pentosanes	1	Inra
Granul Amidon	3	Inra
Sucres	8	Inra
Glutomatic	3	Momont
D.M. Polymères	24	IPLB
% protéines	1	Arvalis
Dureté	1	Arvalis
HPLC Protéines	8	Arvalis
Alvéographe	6	Arvalis
Mixolab	13	Arvalis
Panification	36	Arvalis
Mixolab rapide	11	Chopin
Total	123	

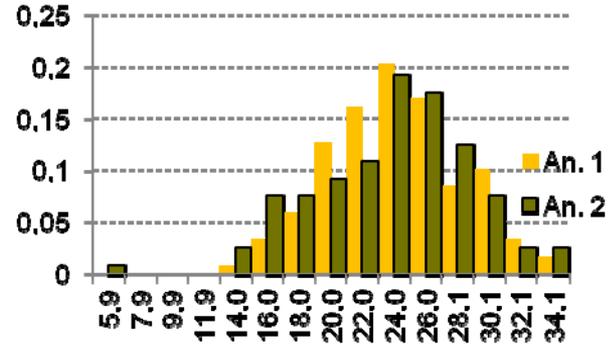
Distribution de caractéristiques du grain



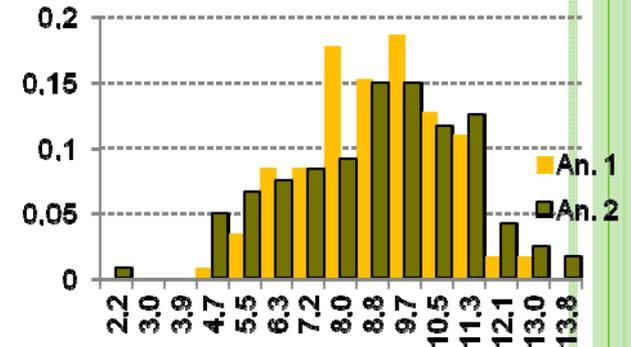
Distribution de la teneur en protéines et des caractéristiques du gluten



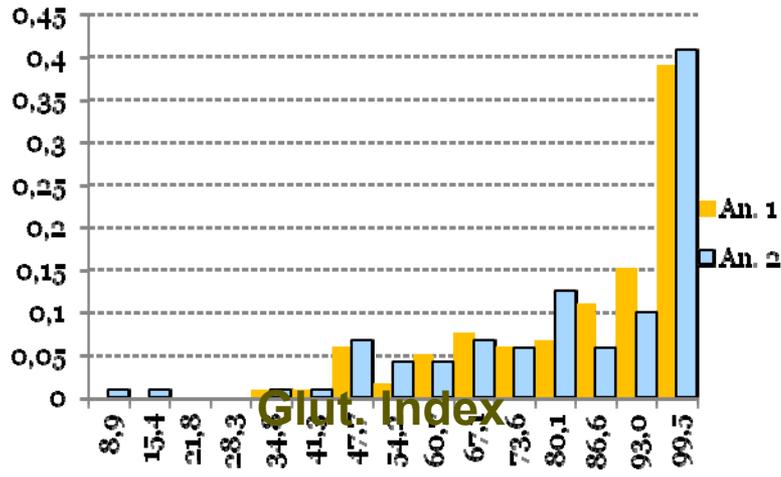
% Protéines



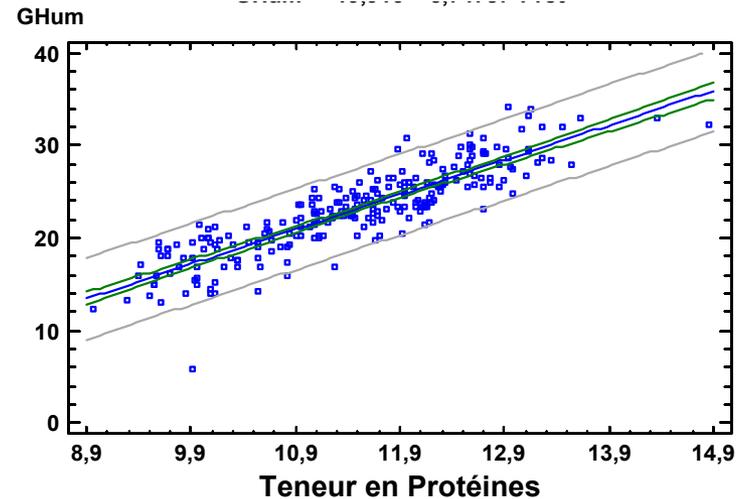
% Glut. Hum.



% Glut. Sec



Glut Index



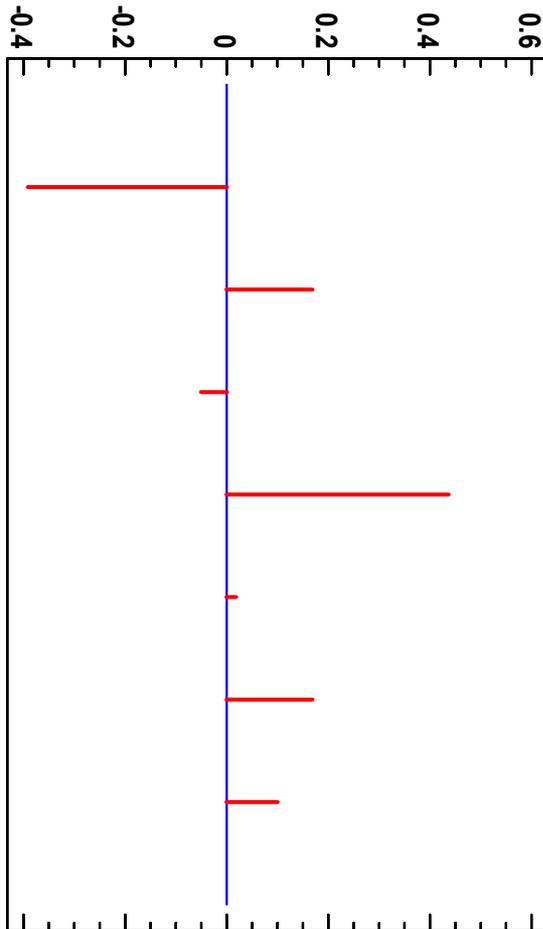
ANOVA et H² pour quelques paramètres

Parametres	Moyenne	Minimum	Maximum
PMG	47.7	36.4	64.9
PS	79.5	73.4	83.9
Tps chute	371	188	452
Dureté	55.9	0.9	112.8
% Protéines	11.5	9.0	14.9
Gluten Index	80.4	8.9	99.5
Amidon Type A	81.3	70.3	93.3
Visco. Réelle	2.00	1.35	3.18
AFFFF Mw2	1.4E+07	5.4E+06	4.9E+07
W	203.0	64.0	400.0
G	20.1	14.1	31.1
P	77.1	33.0	156.0
P/L	1.11	0.22	3.68
volume Pain	1551	1024	1941
note totale Panif	246	124	281
HPLC % F2	23.8	17.9	27.4
Mixolab C2	0.53	0.40	0.67
Mixolab Rapid C2	0.92	0.58	2.41

Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)

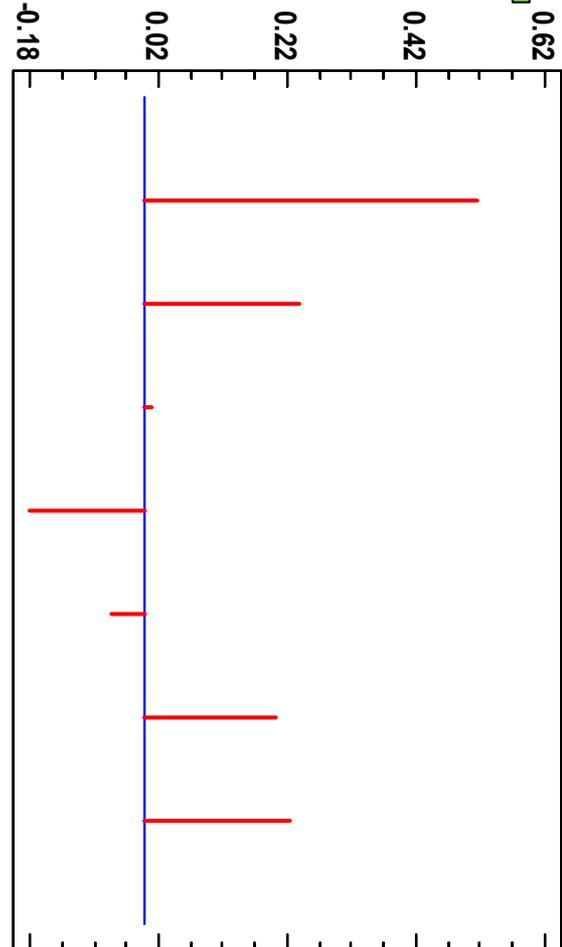
P/L $R^2= 31\%$

■ Coefficients standardisés +



Volume $R^2=33\%$

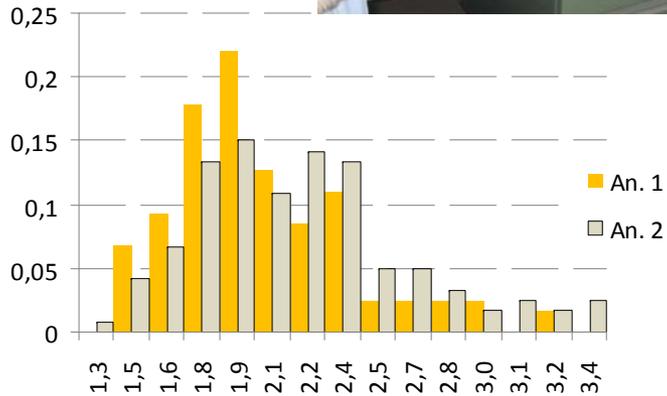
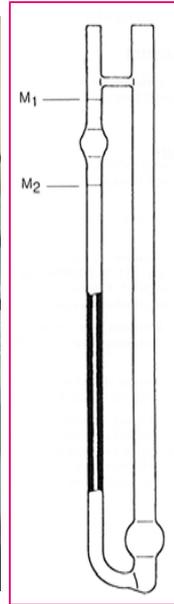
■ Coefficients standardisés +



Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)



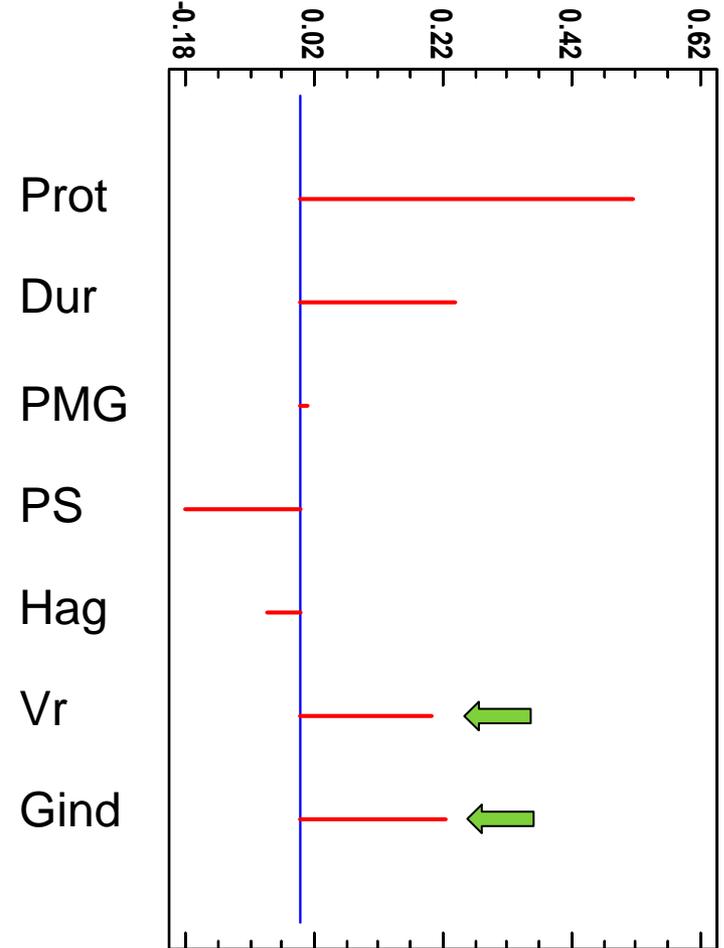
Viscosité relative Vr



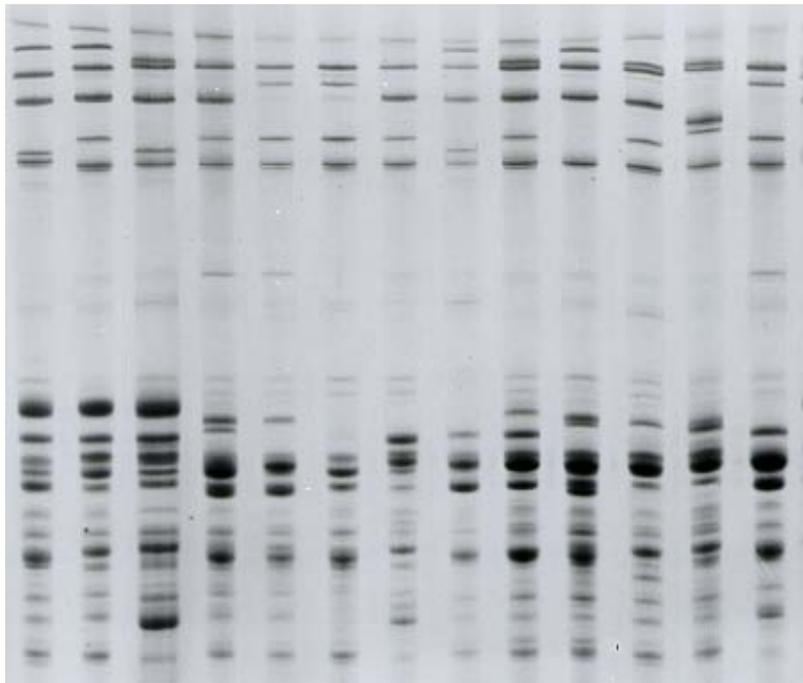
$H^2 = 0.8 - 0.9$

Volume $R^2=33\%$

■ Coefficients standardisés +



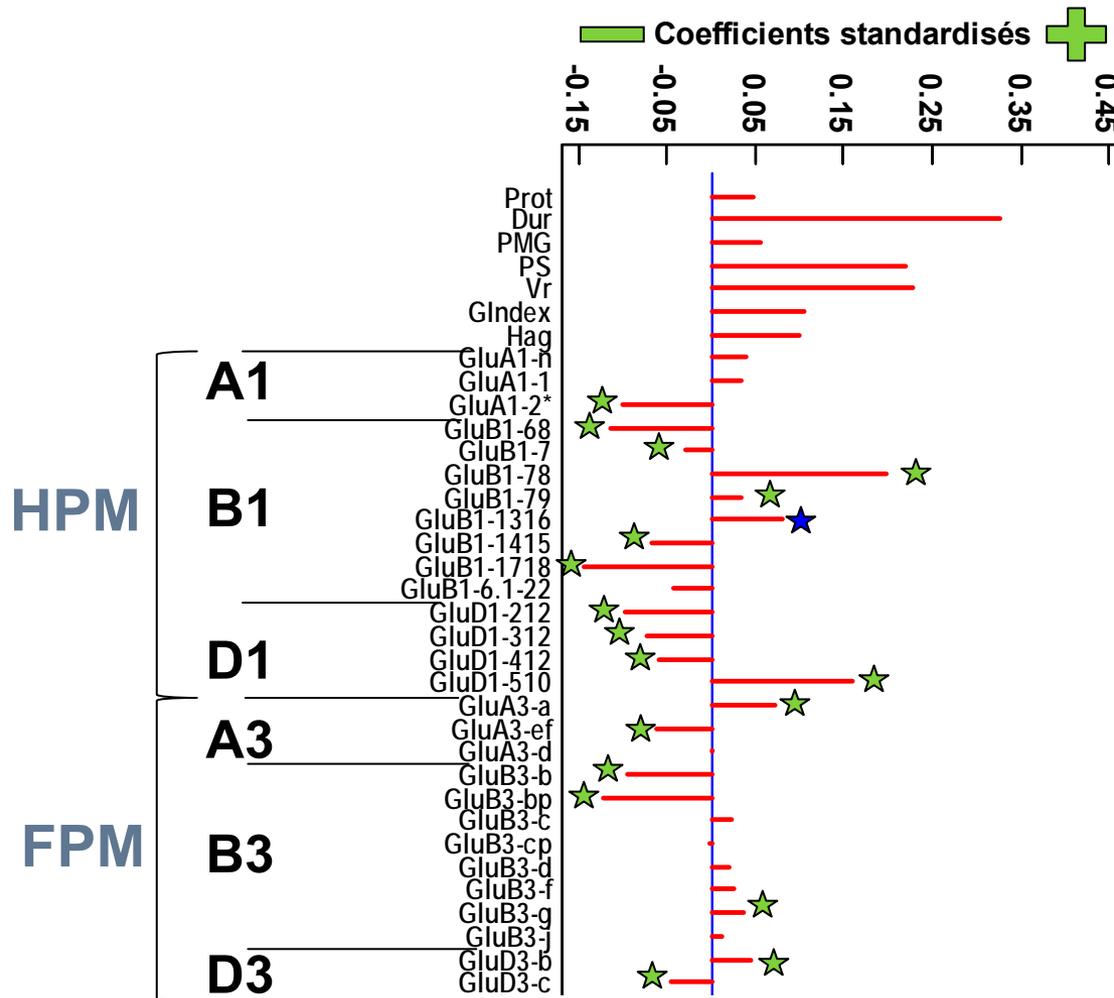
Diversité des allèles des gluténines HPM et FPM



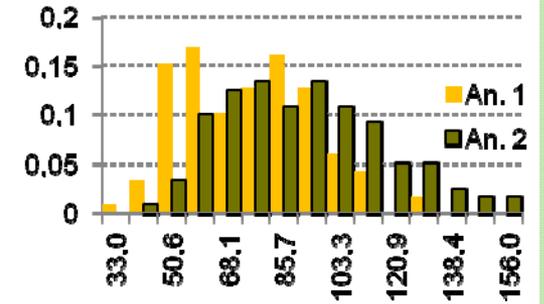
HPM	Glu-A1	1, 2*, n	3
	Glu-B1	6-8, 7, 7-8, 7-9, 13-16, 14-15, 6.1-22, 17-18,	8
	Glu-D1	2-12, 3-12, 4-12, 5-10,	4

FPM	Glu-A3	a, d, ef,	3
	Glu-B3	b, b', c, c', d, f, g, j,	8
	Glu-D3	b, c, b//c	2

Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)

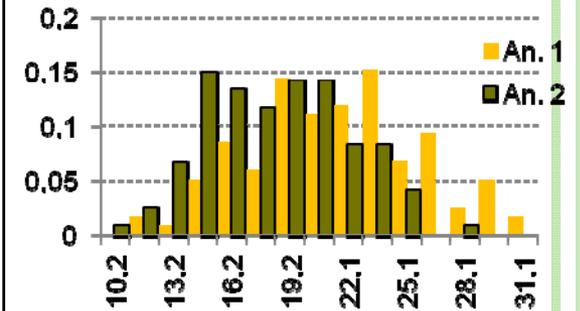
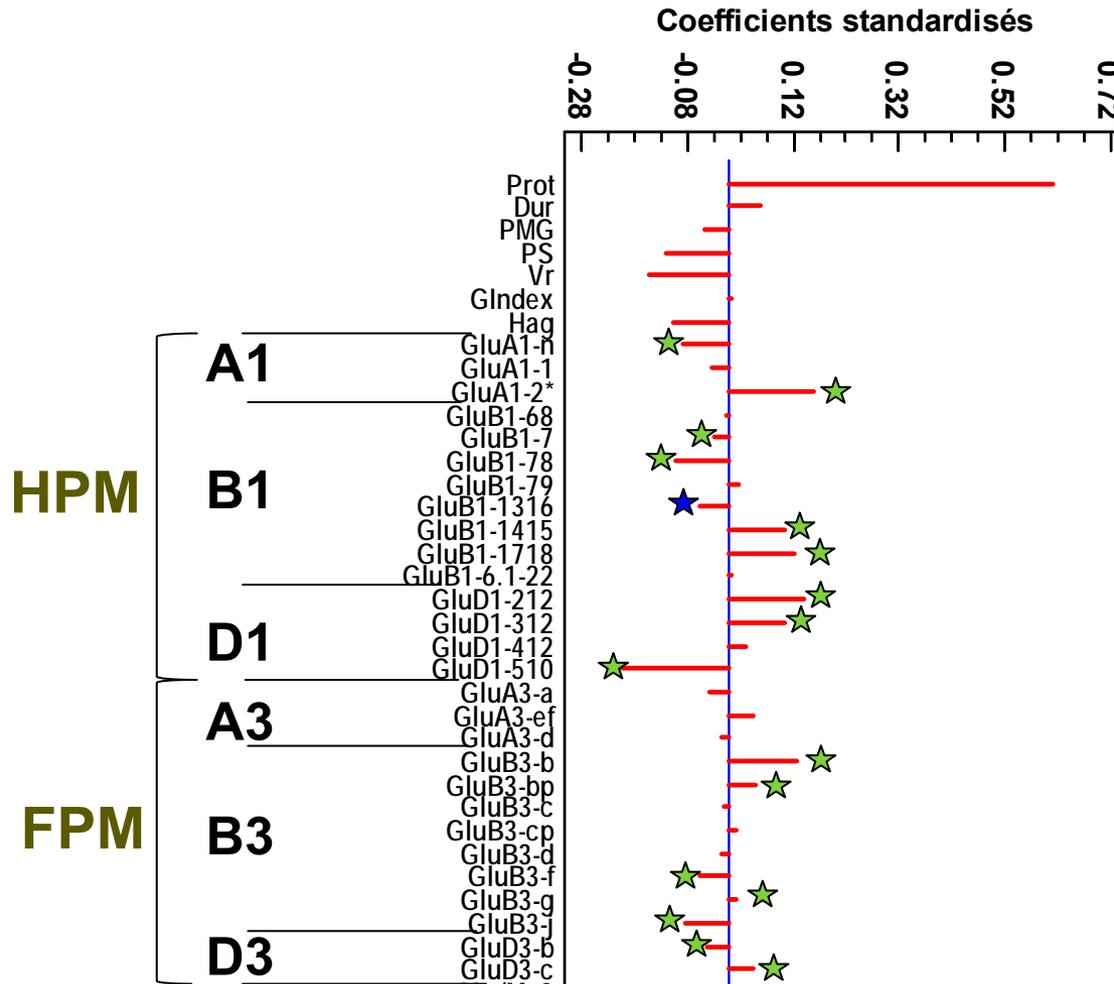


P $R^2=74\%$

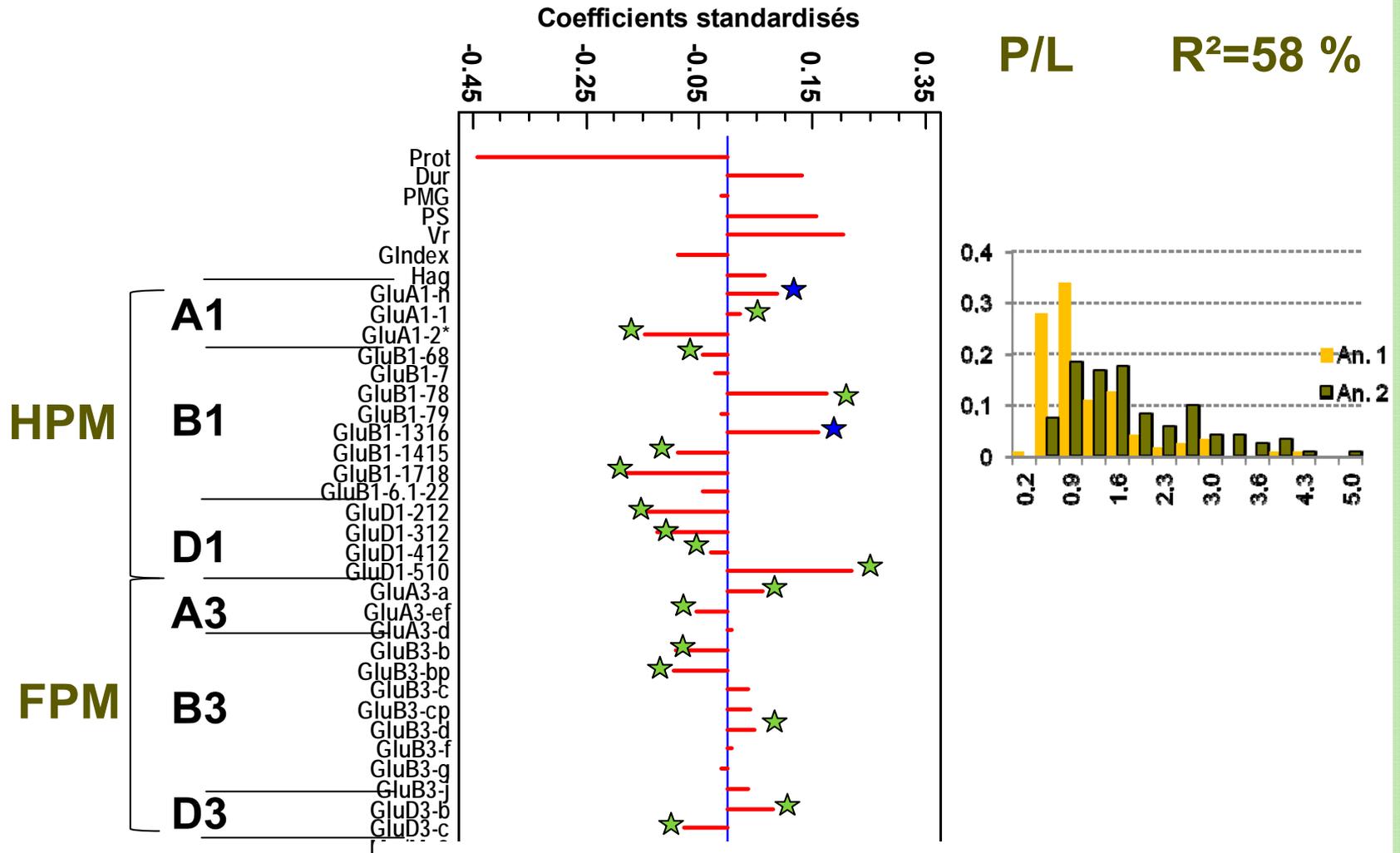


Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)

G $R^2=74\%$

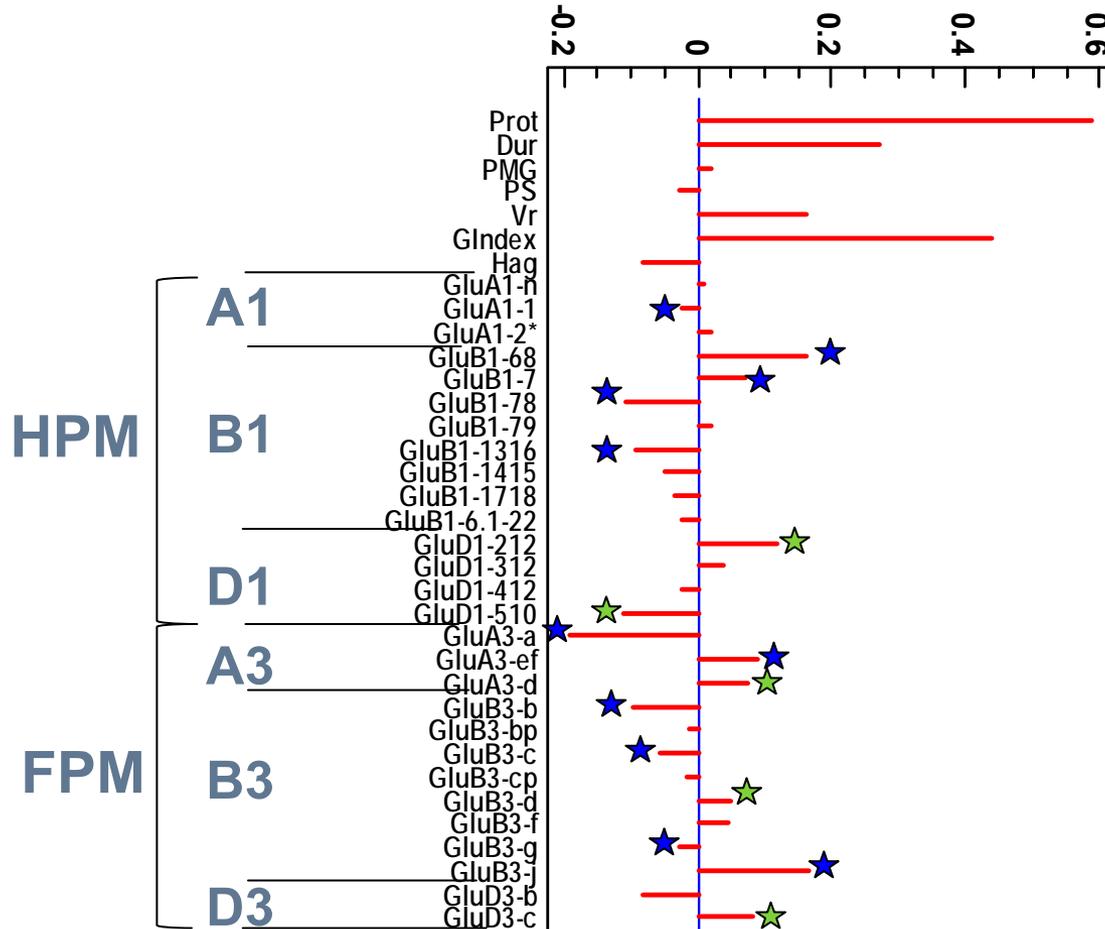


Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)



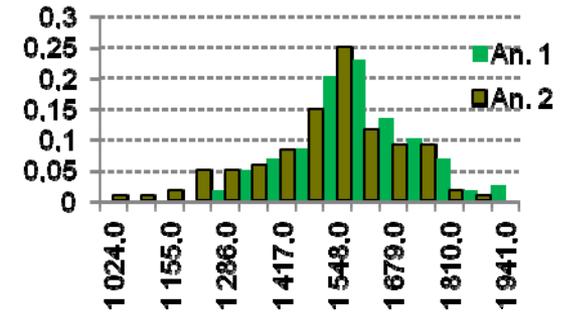
Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)

Coefficients standardisés



Volume

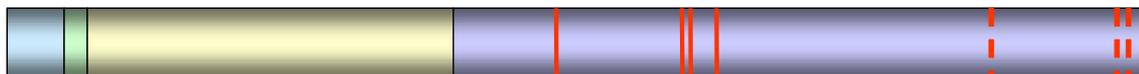
$R^2 = 44\%$



?

Diversité de la structure moléculaire des protéines de réserve

α/β -gliadines : 4, 6 7 cystéines

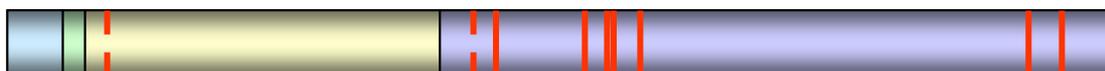


% total gliadines

α : ~ 20%

β : ~ 28%

γ -gliadines: 7,8,9 cystéines



γ : ~ 34%

ω -gliadines : 0 cystéine



ω : ~ 18%

Cys: intramoléculaire

Cys: intermoléculaire

SG-HPM type x



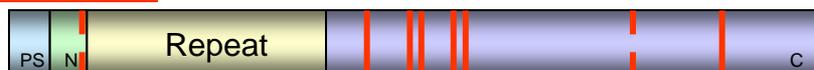
% total gluténines

SG-HPM type y



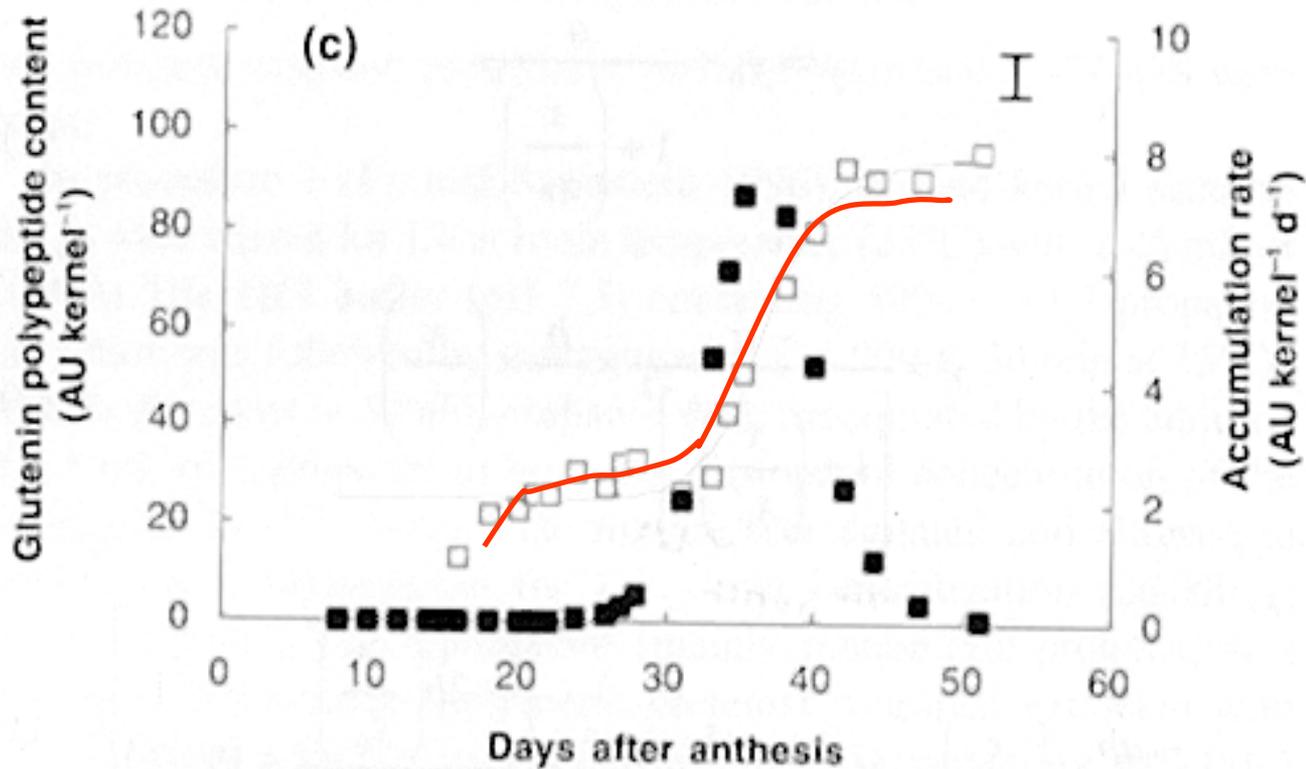
HPM: ~ 30%

SG-FPM



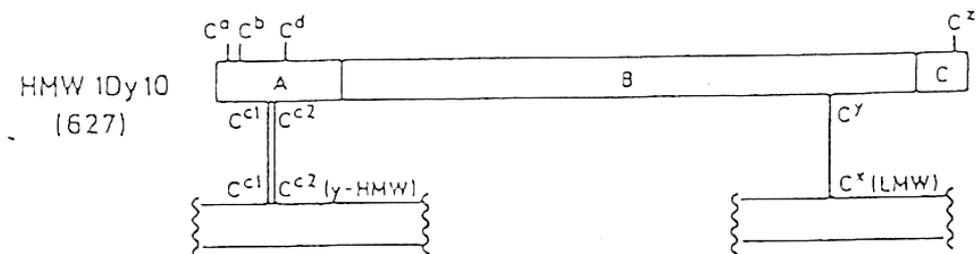
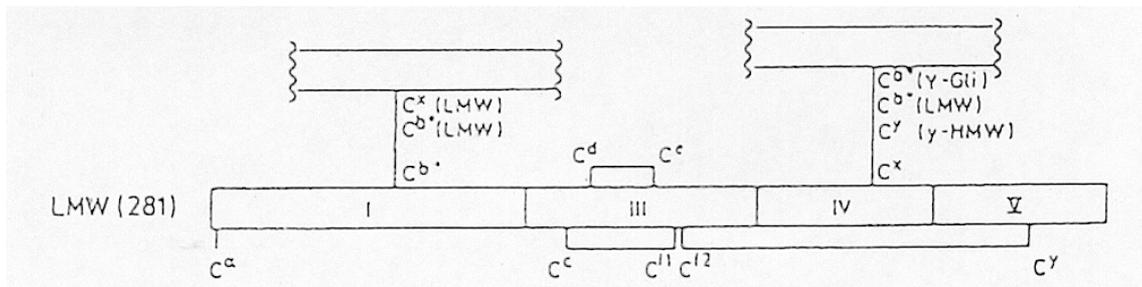
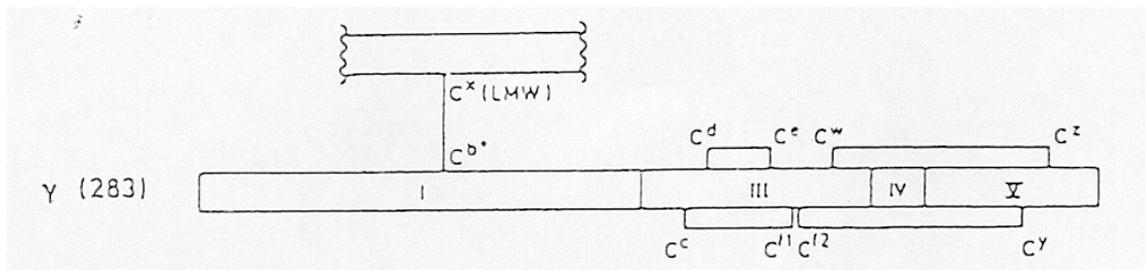
FPM: ~ 70%

*Formation des polymères des gluténines (fraction insoluble au SDS)
au cours du développement du grain (cv: Soissons)*

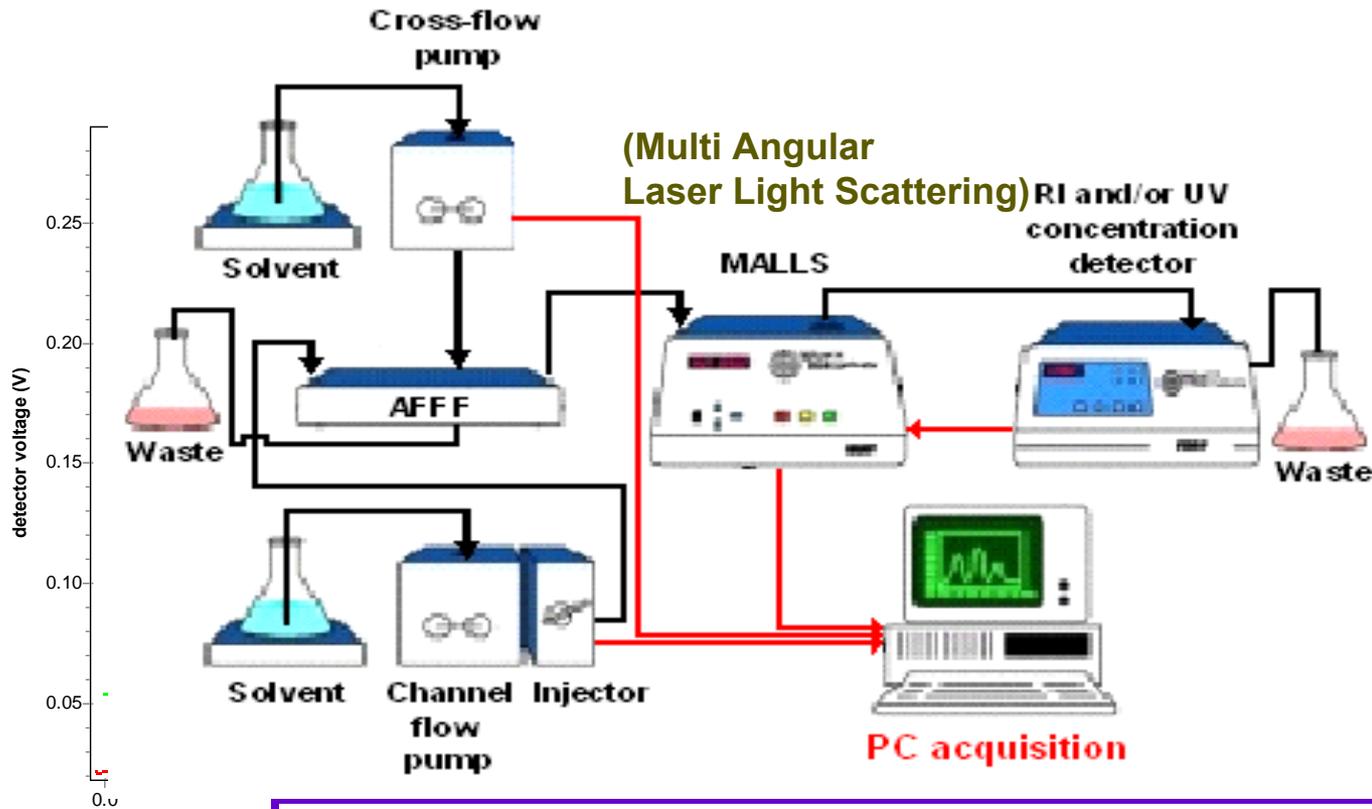


From Carceller JL, Aussenac T., Aust. J. Plant Physiol 2001, 28; 193-201

Liaisons covalentes (SS) intra et intermoléculaire



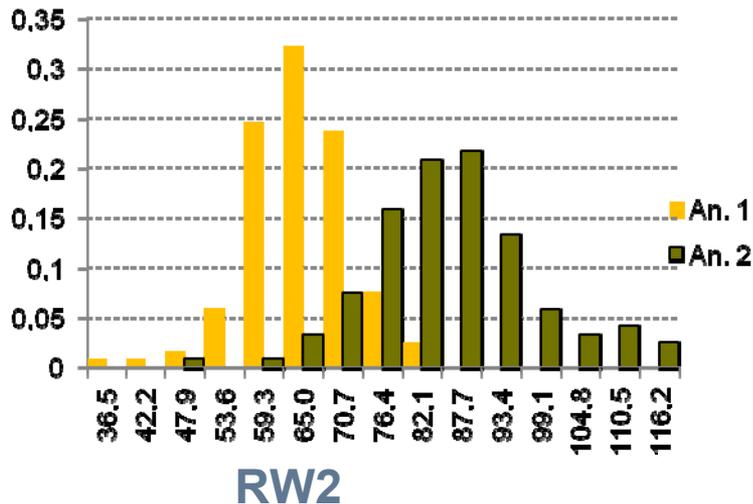
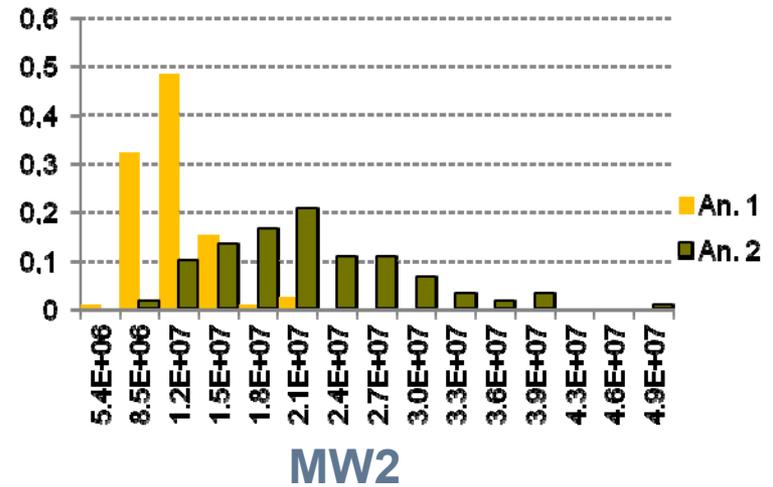
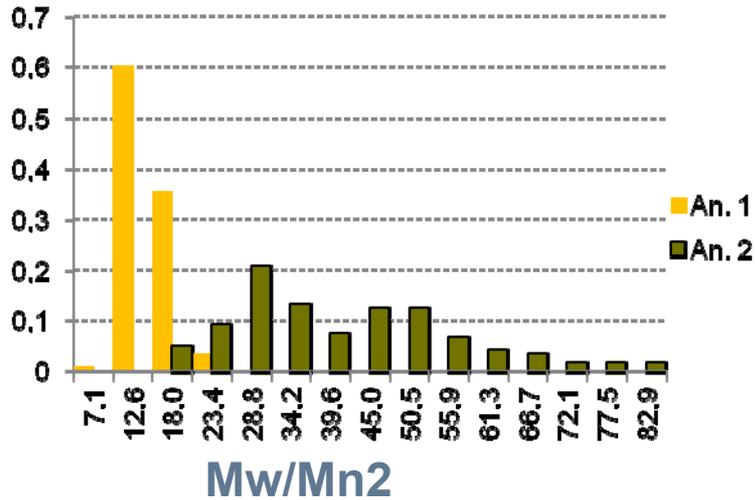
Analyse des polymères par AFFF (Asymmetric Flow Field Flow Fractionation)



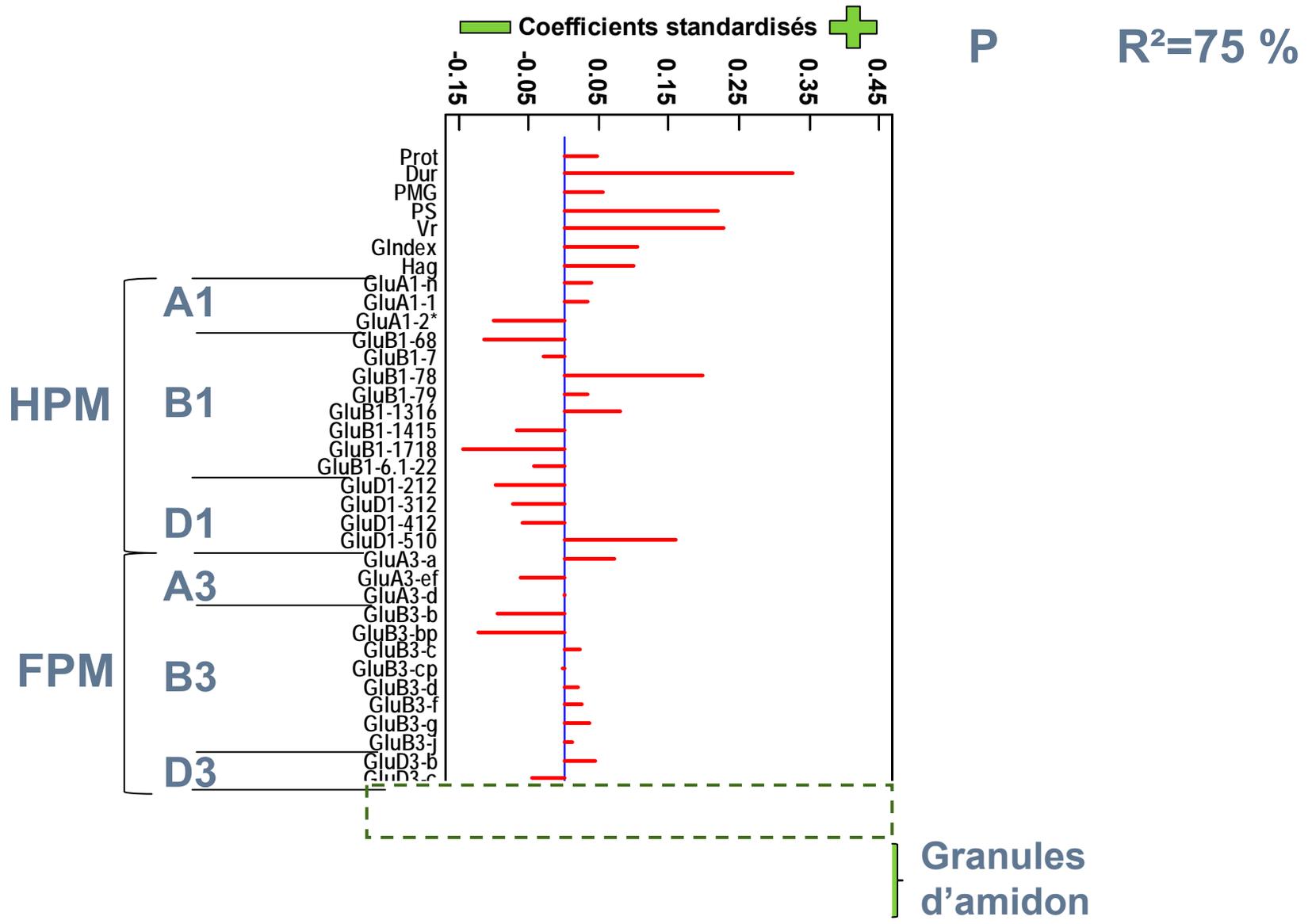
Measurements:

- M_w : weight-average
- M_n : number-average
- M_w/M_n : polydispersity index
- R_w : weight-average mean square radius (radius of giration)

Distribution de trois variables des polymères des protéines de réserve

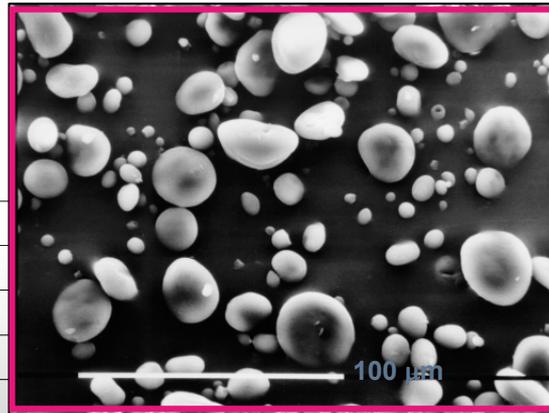
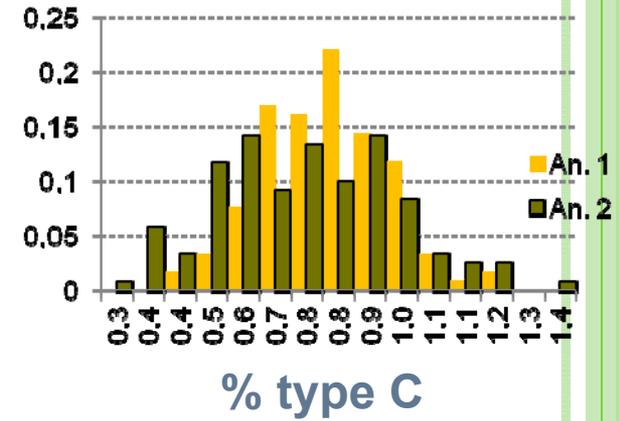
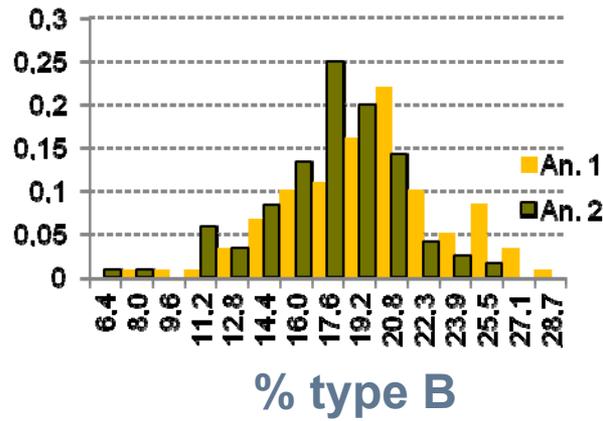
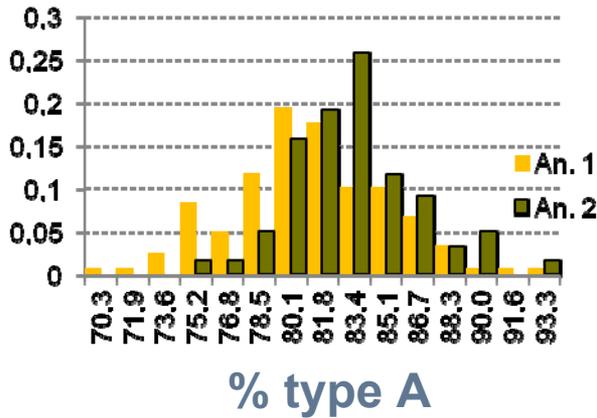


Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)



Distribution des tailles des granules d'amidon

$C < 2\mu\text{m}$, $2 < B < 10$, $A > 10\mu\text{m}$



QTL sur volume occupé par les granules

2 descendances:

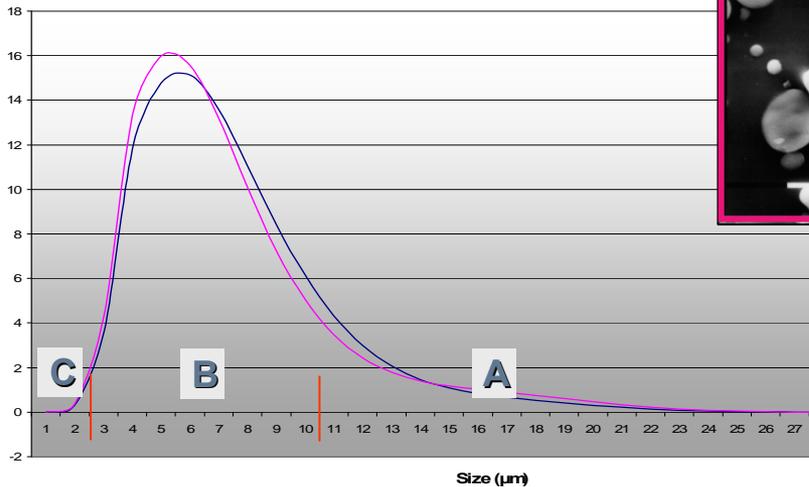
Renan x Récital

Apache x Ornicar

Granules A : 3B

Granules B : 3B et 6B

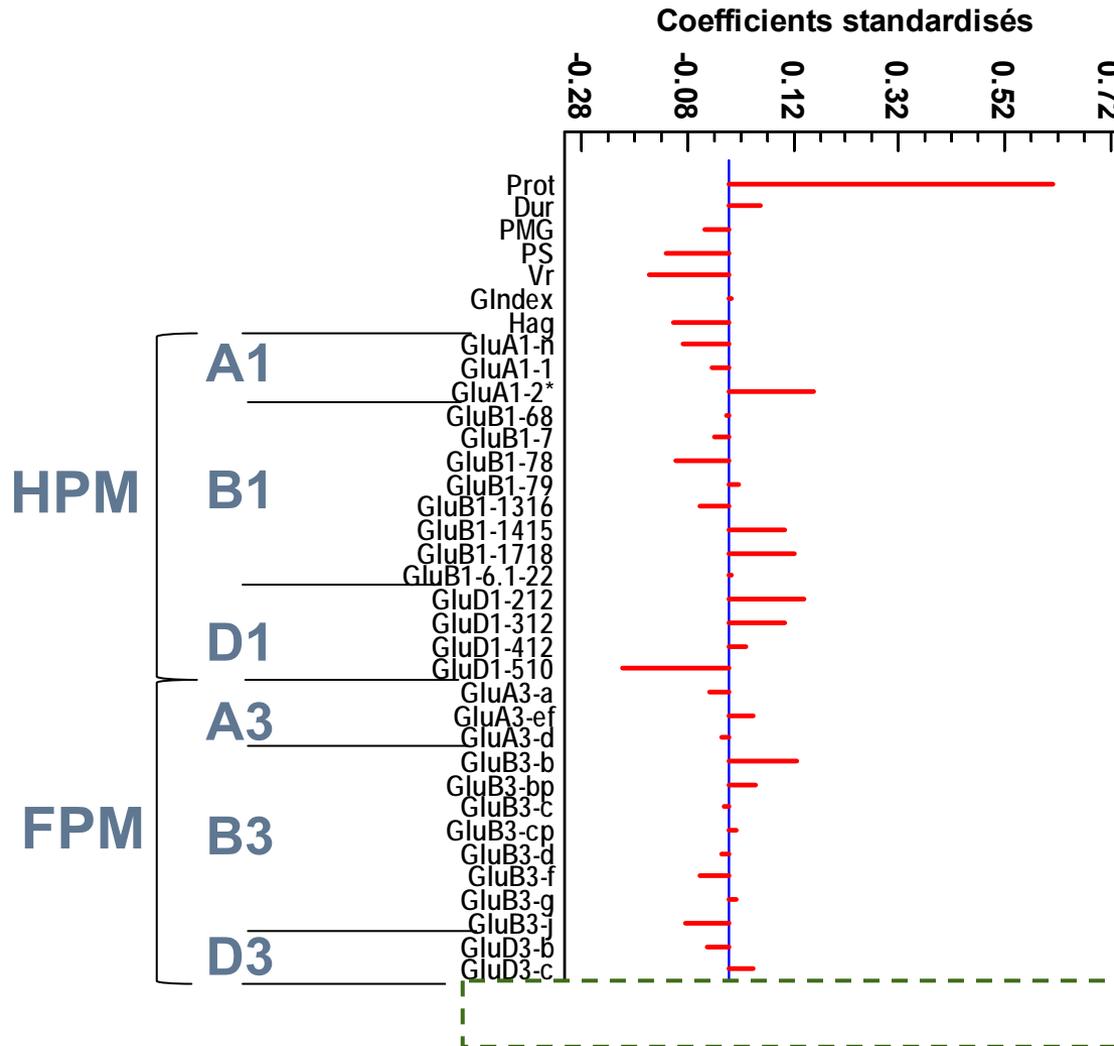
Granules C : 1A et 2A



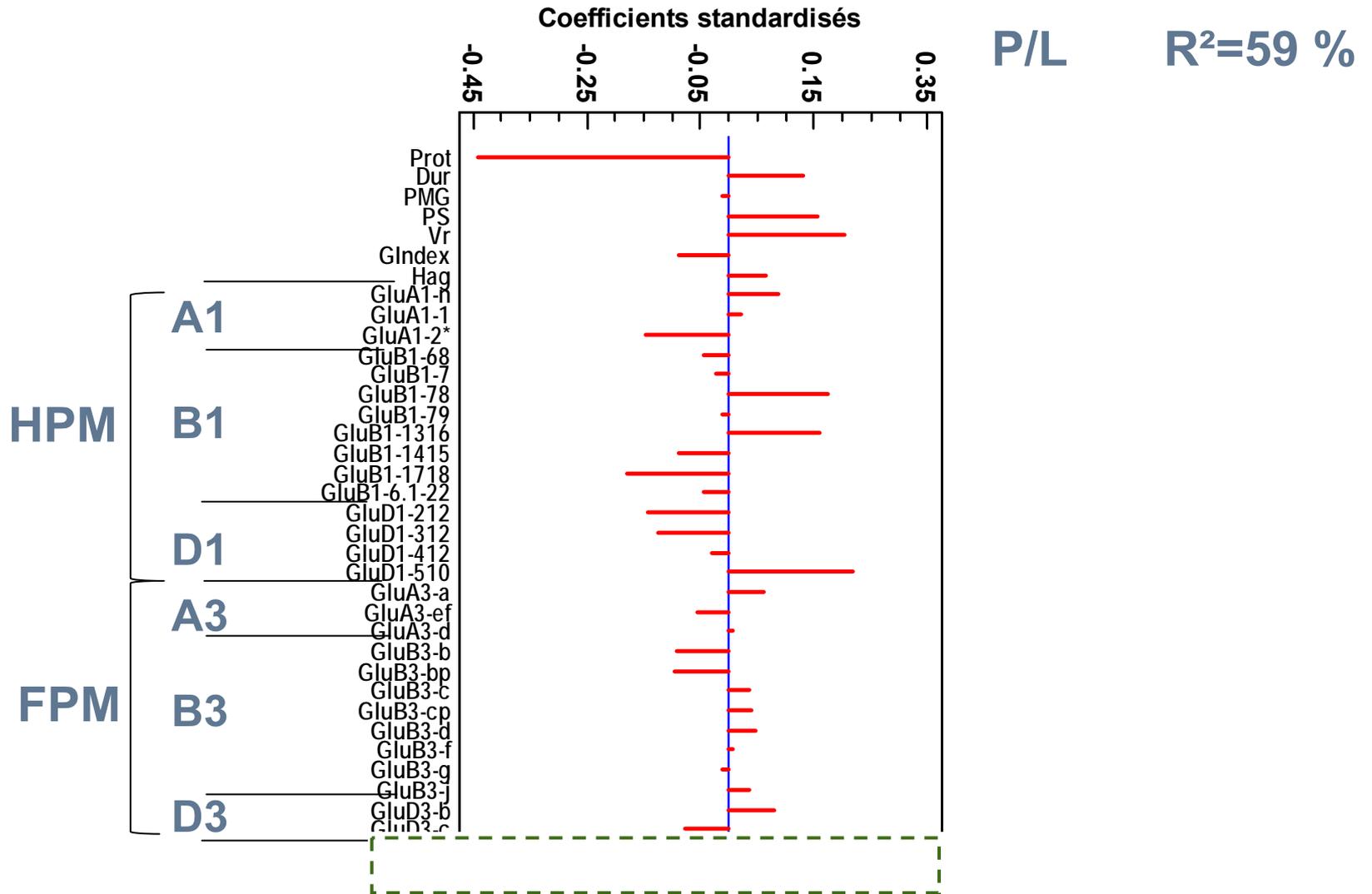
Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)

G

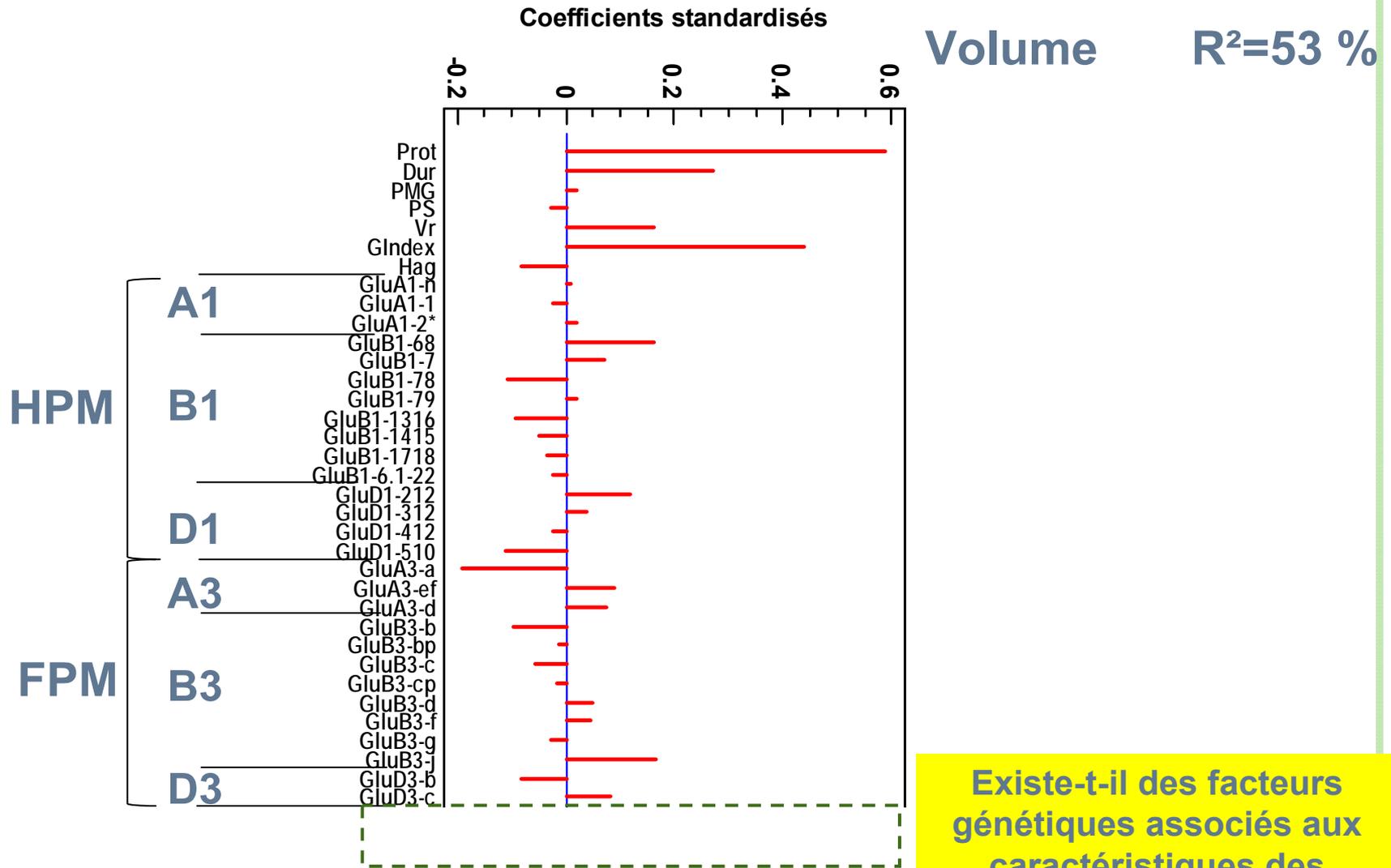
R²=79 %



Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)



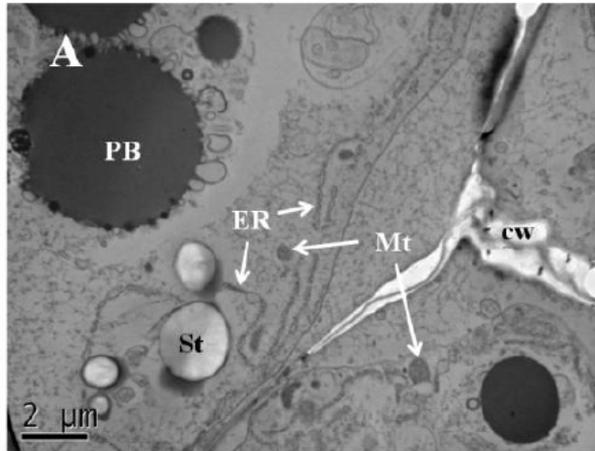
Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)



Existe-t-il des facteurs génétiques associés aux caractéristiques des polymères?

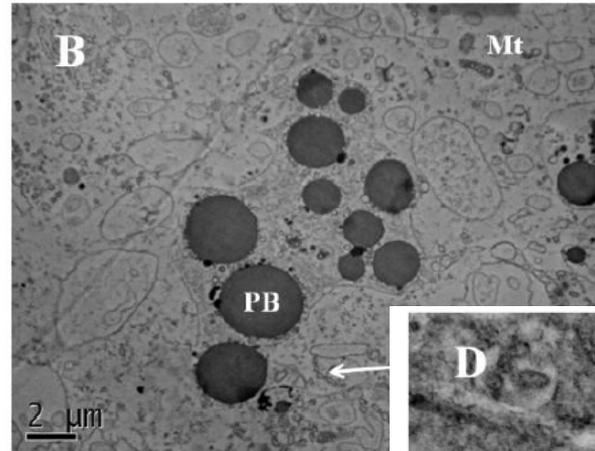
Observations au cours du développement de l'albumen (300°J) de grain « soft » et « hard »

Soft



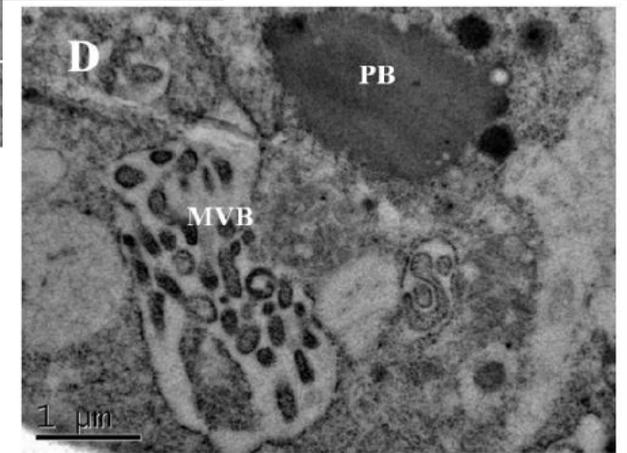
X 8000

Hard



X 6000

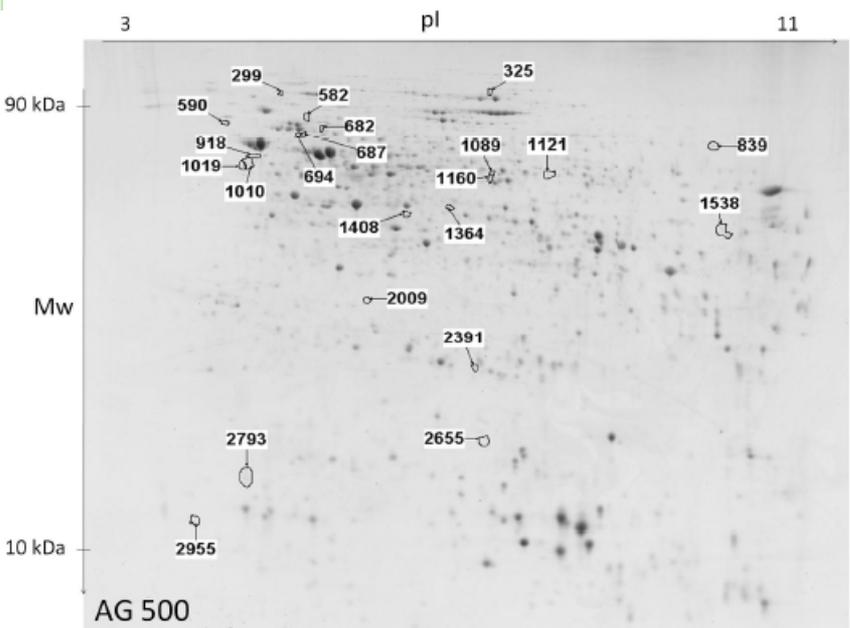
Hard



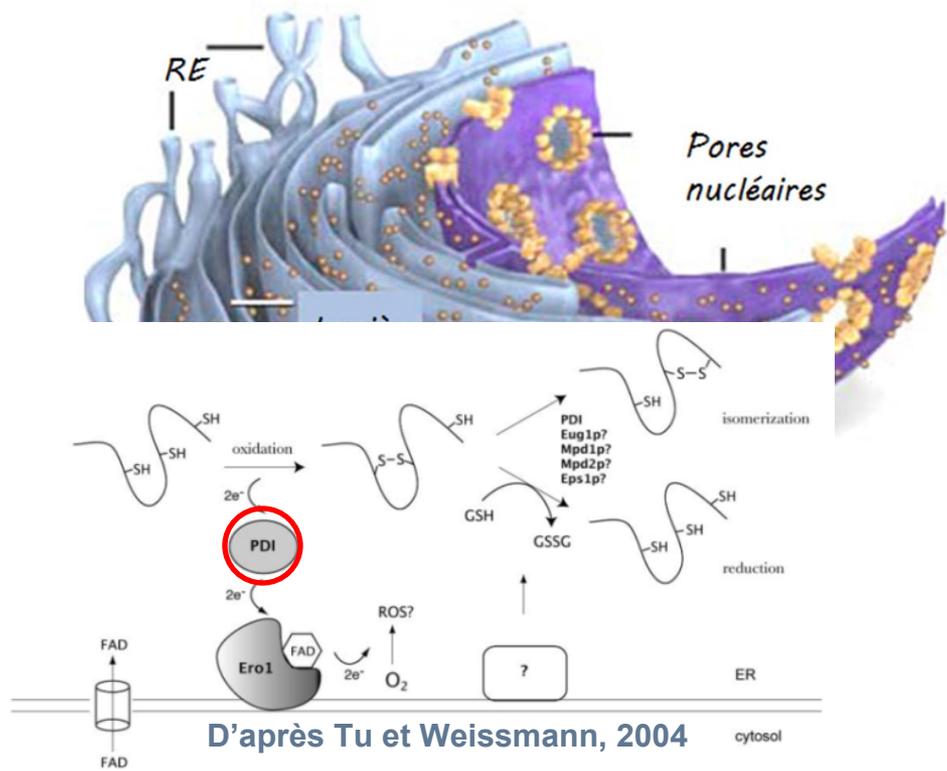
X 25000

Source :Lesage V 2012 J Exp Bot 63, 1001-1011

Hypothèse: de possibles perturbations dans les mécanismes de synthèse des protéines



Source : Lesage V 2012 J Exp Bot 63, 1001-1011

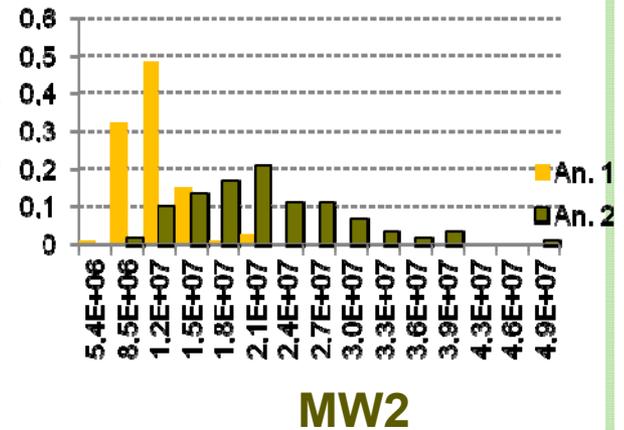
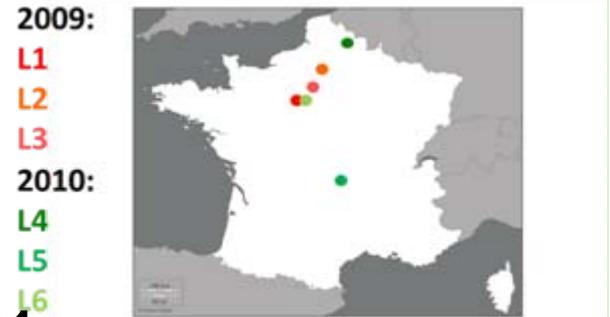
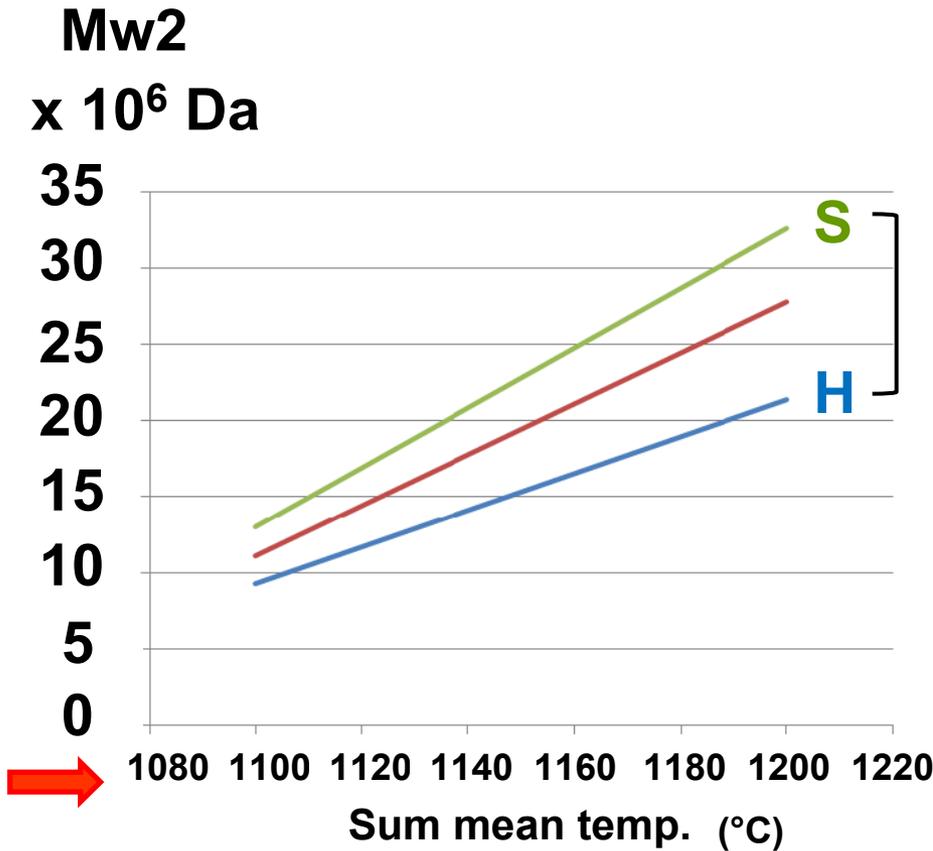


Synthèse protéique importante engagée
 ER01 oxydoreductin qui régénère la PDI
 Mais production de ROS

- response to oxydative stress
- O_2^- , superoxide anion; H_2O_2 , hydrogen peroxide
- OH, hydroxyl radical; $ROO\bullet$, peroxy radicals

stress du RE et réponse associée causant un mauvais repliement des protéines

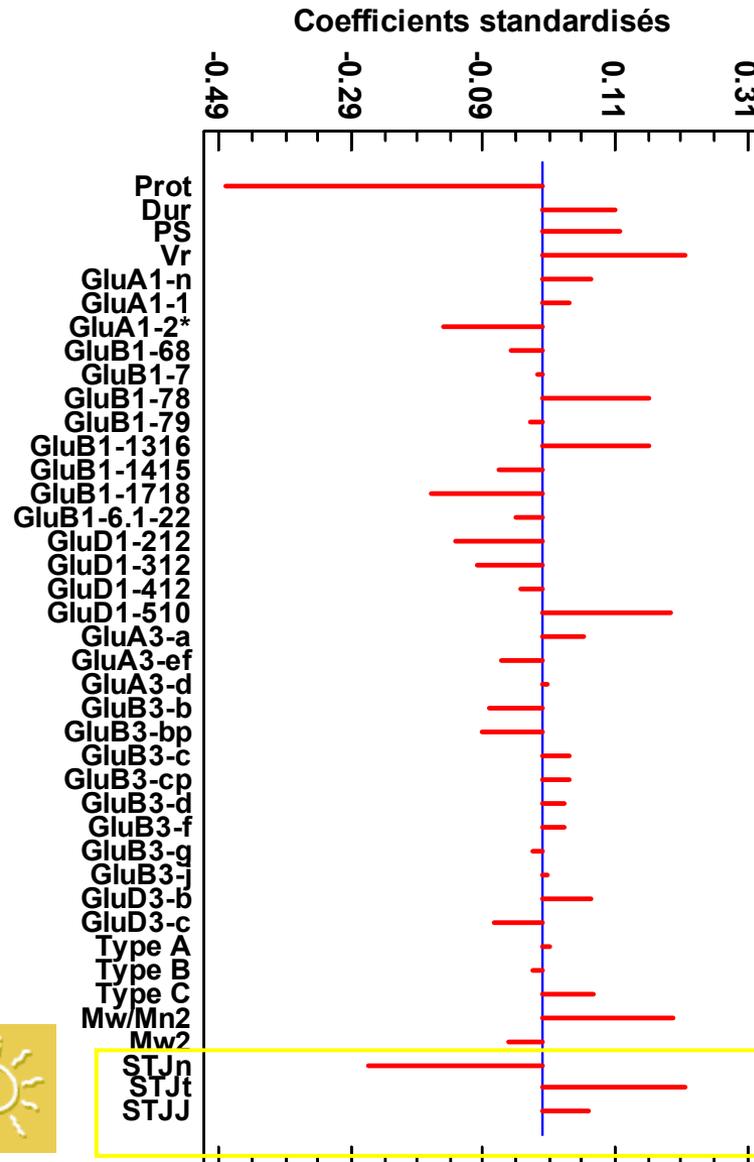
Régression Mw2 sur la somme des moyennes des températures quotidiennes de juin et juillet



La température a un impact sur la taille des polymères et cet effet est différent selon la dureté de l'albumen

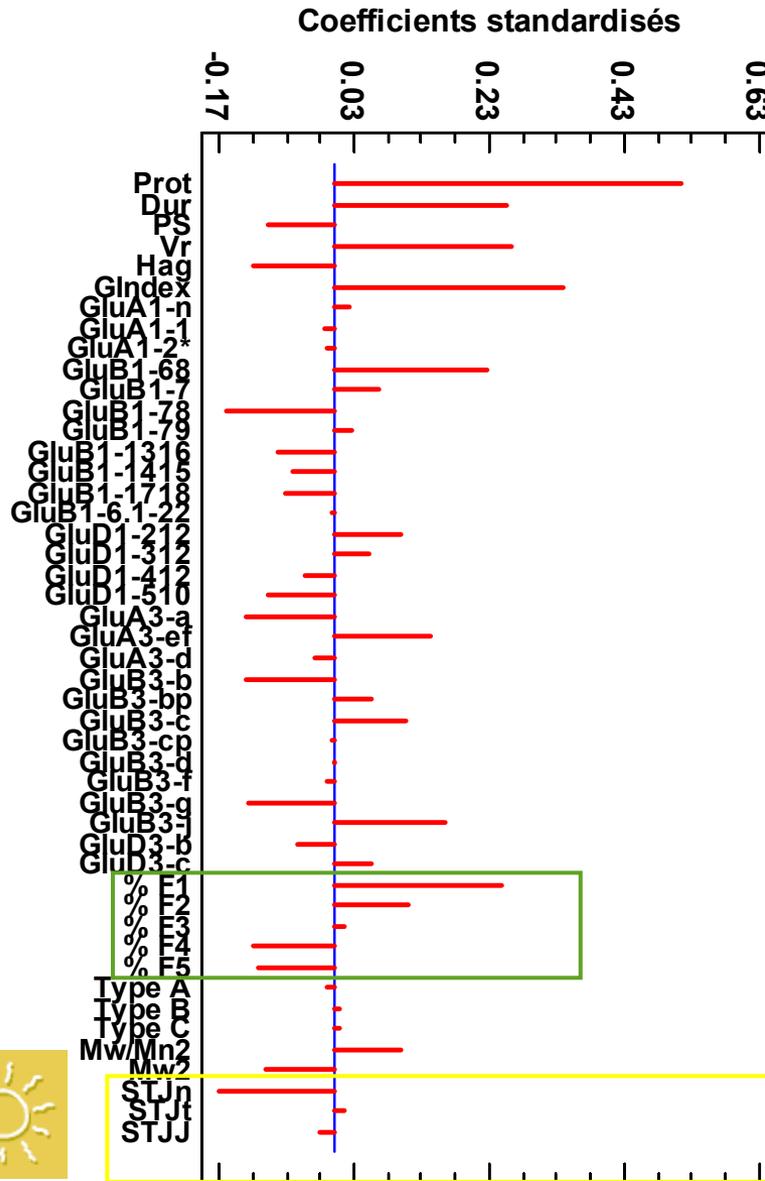
Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)

P/L R²= 65%

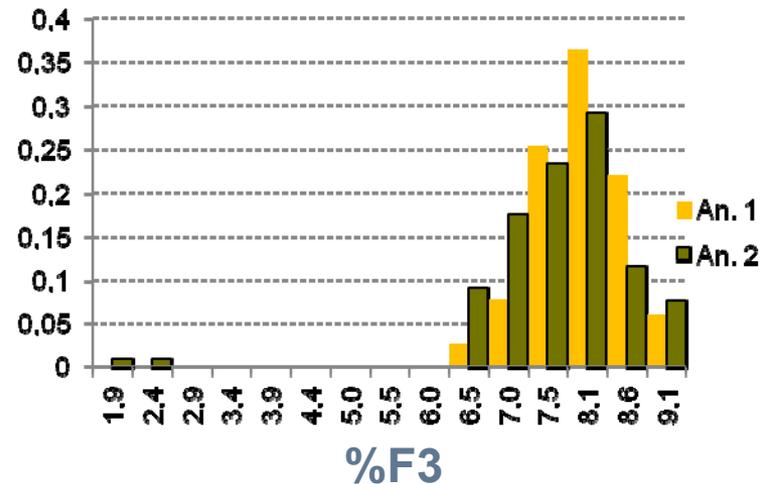
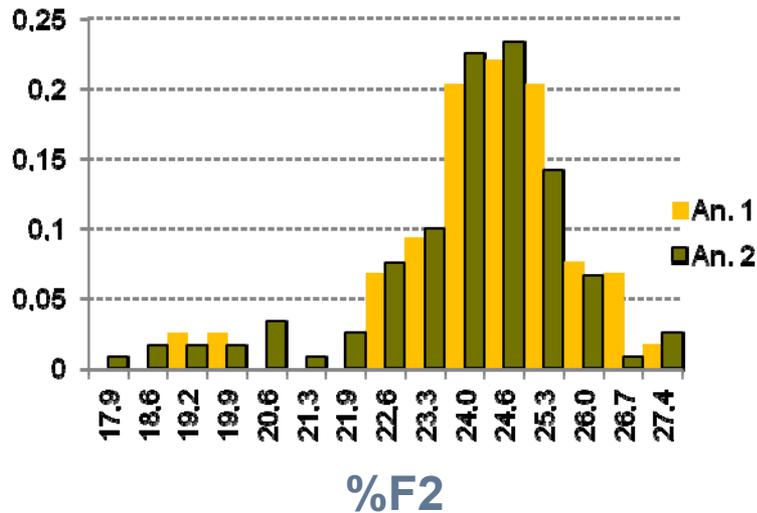
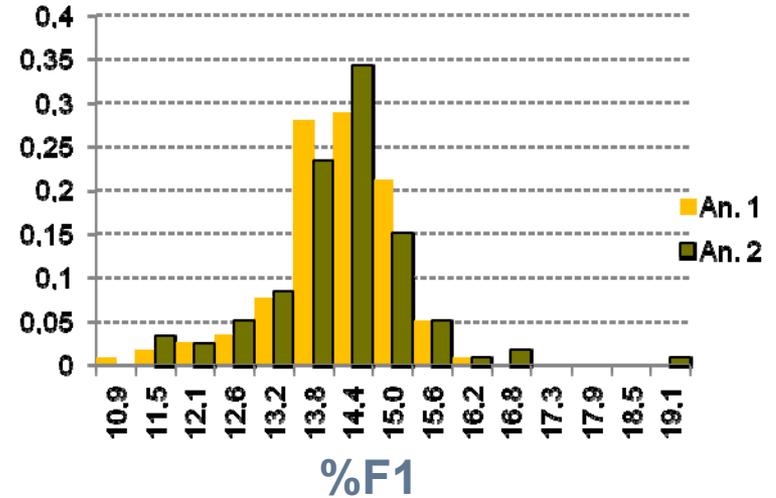
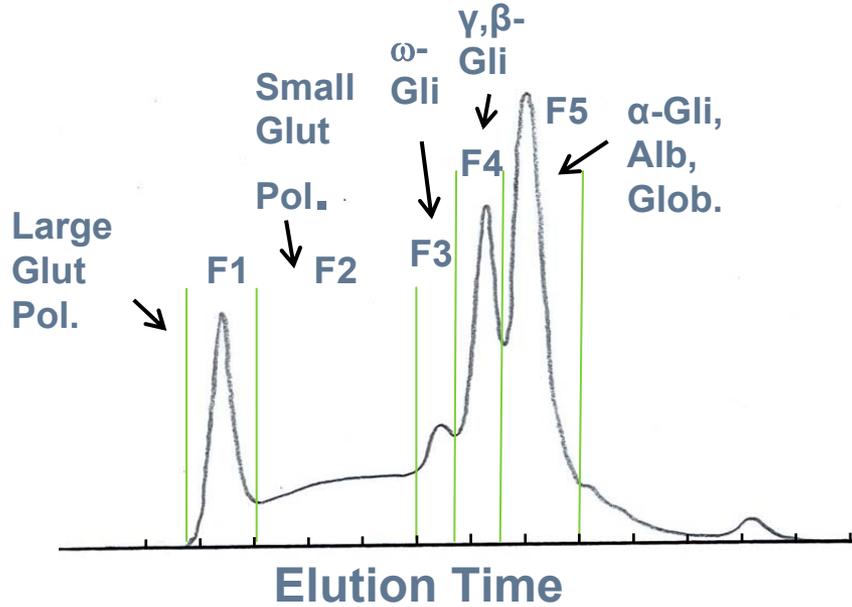


Identification de paramètres explicatifs (analyse PLS)

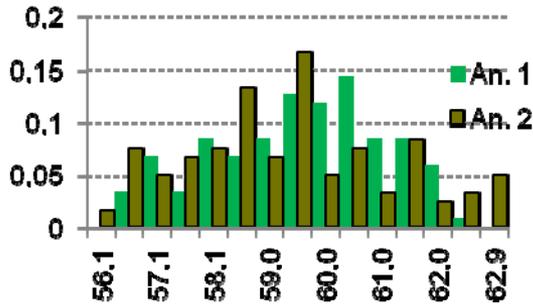
Volume $R^2 = 58\%$



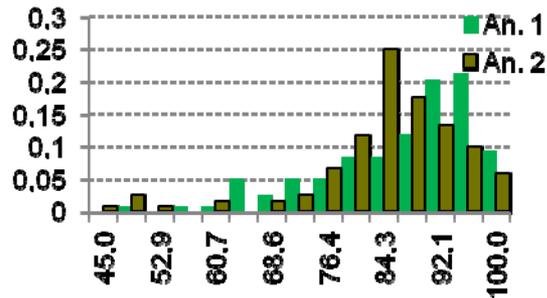
Séparation par chromatographie d'exclusion (SE-HPLC) des protéines de réserve



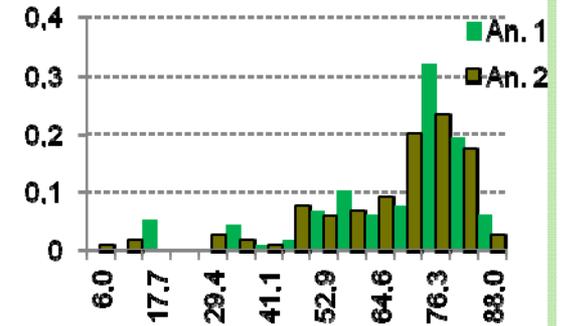
Panification (BIPEA)



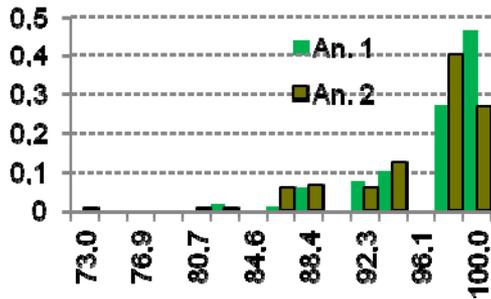
Hydrat. pâte



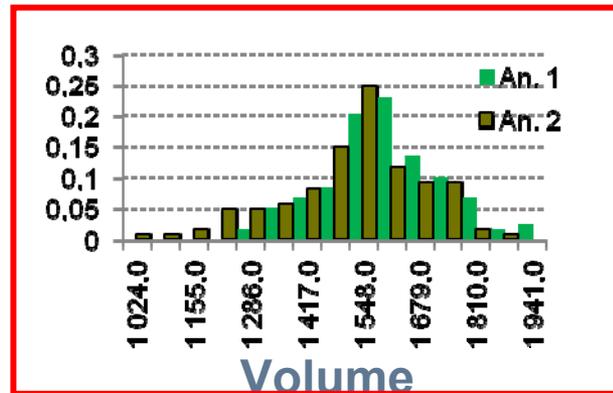
Note Pâte



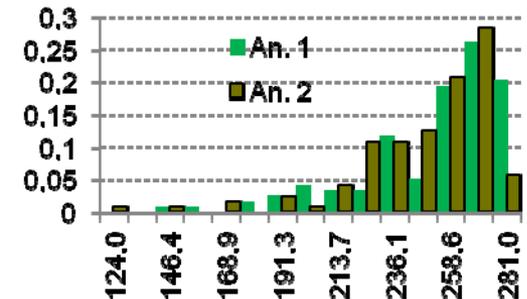
Note Pain



Note de Mie



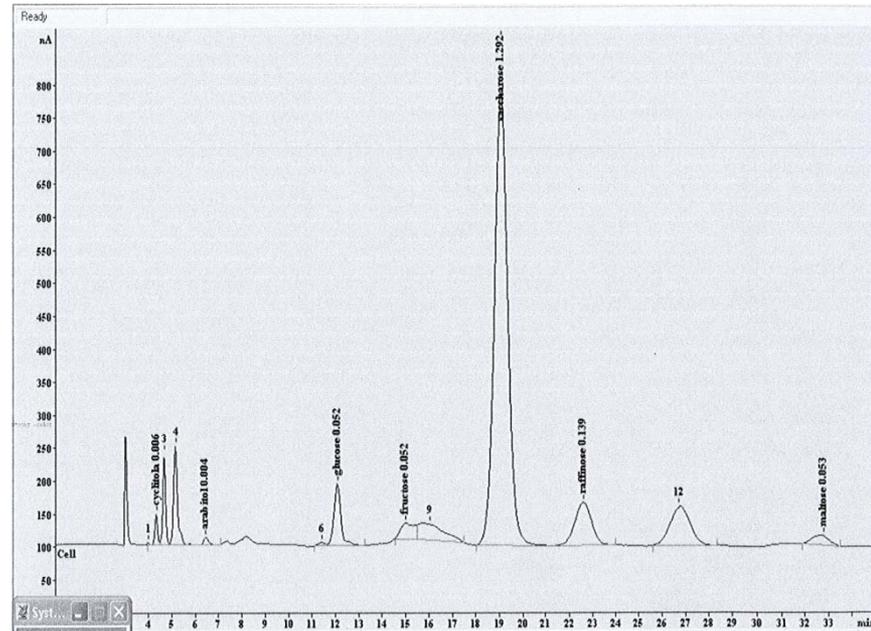
Volume



Note totale

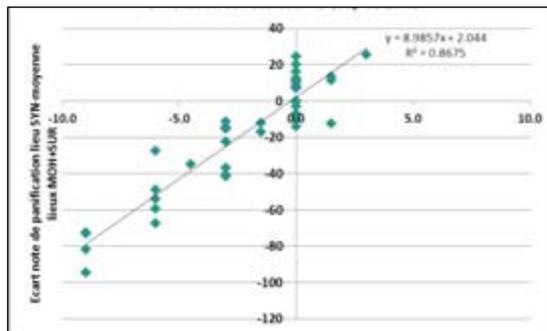
- 30 autres paramètres (ou notation on été obtenus)
- Une réflexion est engagée sur certaines notations
- Un approfondissement est entrepris pour l'identification de paramètres pouvant mieux exprimer une caractéristique génétique par rapport aux fluctuations résultant de variations environnementales

Quelques autres observations

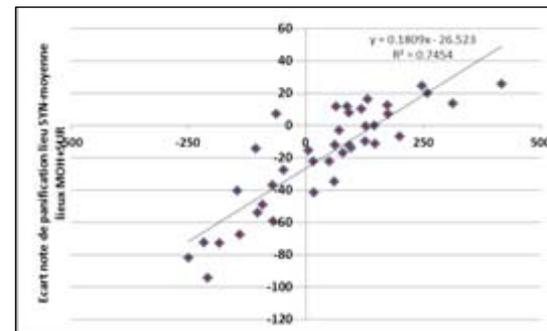


Dosage des sucres par HPLC

Ecart Note Panif
(Lieu 1 – moy deux autres lieux)

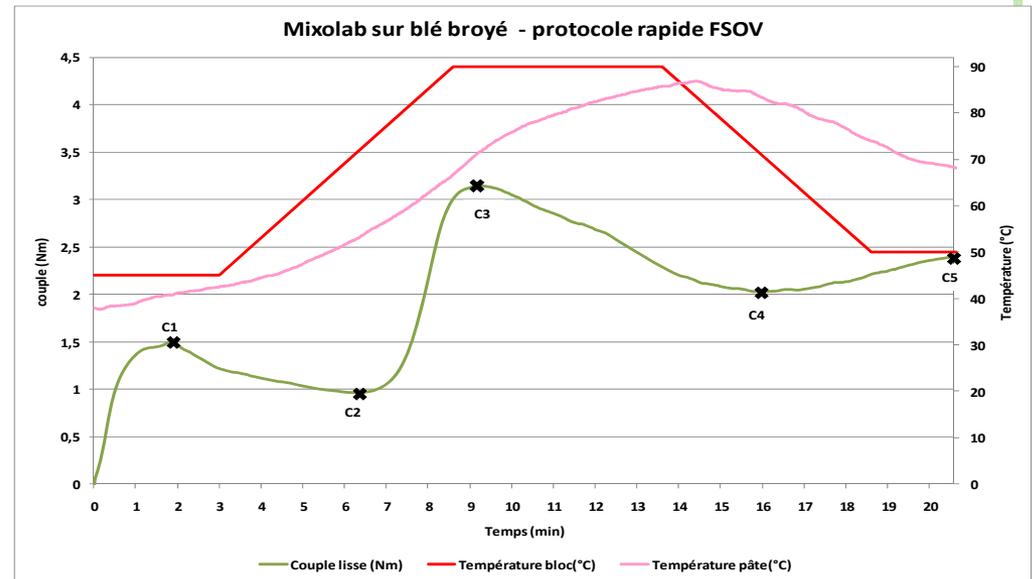


Ecart Coup de lame



Ecart Volume du Pain

Mixolab : Développement d'un protocole rapide



Mixolab : Prédiction du comportement rhéologique

		W	G	P	PsL
Nombre prédicteurs		11	11	11	11
Etendue des valeurs de reference		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
% prédictions 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%

Mixolab : Prédiction du comportement en panification

		Volume	Hydratation	Note de pâte	Note de mie	Note de pain	Note totale
Nombre de prédicteurs		11	11	11	11	11	10
Etendue des valeurs de référence		1155 - 1826	56,6 - 63	48 - 97	82 - 100	12 - 87	142 - 281
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
% prédictions dans les limites d'incertitudes de la méthode		93,30%	96,50%	88%	100%	70%	73,50%
Limites d'incertitudes de la méthode de référence		+226	+2,7	+17,2	+11,2	+18,6	+31,4
Tolérance pour obtenir 80% de bonnes prédictions		+ 170 cm3	+1,5	+14	+6	+20	+35

Conclusions

- 1- La variabilité génétique des cultivars et les essais réalisés ont fournis une large variation des caractères P/L et volume du pain.
- 2- Ces deux caractères ne sont pas liés, mais plusieurs variables facilement mesurables et/ou très héritables sont désormais à privilégier.
- 3- Pour mieux maîtriser la ténacité, l'extensibilité et le P/L, les caractères suivants sont à considérer
 - Teneur en protéines, Dureté (MH), Poids spécifique,
 - Les allèles des gluténines associés à l'extensibilité sont à privilégier.
- 4- Le volume du pain est un caractère peu héritable. Cependant en plus des caractères précédents les variables suivantes sont à prendre en compte pour l'améliorer:
 - Viscosité relative des pentosanes,
 - Exclure les allèles associés à une plus forte ténacité (et notamment Glu-A3a)
- 5- Le projet a fait apparaître les caractéristiques des polymères des protéines de réserve comme étant fortement influencées par la température. Une variabilité génétique existe, notamment pour ces caractéristiques, qu'il convient d'explorer si l'on veut obtenir une meilleure stabilité de la valeur d'utilisation.
- 6 - Le test du Mixolab offre de réelles possibilités d'approcher la valeur phénotypique du volume du pain, en sélection.

Remerciements

CETAC

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

GNIS –FSOV

Ch. Amaury,
X. Martin, O. Pinay
P. Roux

Club5

A. Olivier, P. Rigolle;
P. Senellart, Syngenta;
P. Lonnet, F. Desprez;
Th. Demarquet, F. Desprez;
E. Margalet, Serasem;
J.L. Monnier, Serasem;
J. Stragliatti, Limagrain;
Th. Ronsin, Limagrain;

Inst. Polytech. LaSalle Beauvais

L. Rhazi
T. Aussenac

Arvalis

B. Méléard

INRA Clermont Fd

F.X. Oury,
A. Faye
B. Saint-Joanis
M. Vandame
J. Salse

Chopin Technologies

N. Boinot
M. Berra
A. Dubat

Merci