

**CENTRE INTERNATIONAL D'ETUDES SUPERIEURES EN  
SCIENCES AGRONOMIQUES DE MONTPELLIER**

**THESE**

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DU CENTRE INTERNATIONAL D'ETUDE SUPERIEURES  
EN SCIENCES AGRONOMIQUES DE MONTPELLIER**

**Discipline : Sciences des Aliments**

**Etude des bases biochimiques et physicochimiques de la valeur  
meunière du blé tendre à l'aide de lignées quasi-isogéniques pour  
la dureté**

Présentée et soutenue publiquement

par

**Agnès Privat Hilaire LASME**

Le 22 Juillet 2011

Jury de soutenance

Mme M.G. D'Egidio	Directeur de Recherche, CRA, Rome	Rapporteur
M. M. Rousset	Directeur de Recherche, INRA Le Moulon	Rapporteur
M. B. Cuq	Professeur Supagro, Montpellier	Examineur
M. J. Y. Delenne	Maitre de Conférence UM2, Montpellier	Examineur
Mme C. Bar L'Helgouac'h	Ingénieur Arvalis-Institut du végétal, Paris	Examineur
Mme V. Lullien-Pellerin	Directeur de Recherche INRA, Montpellier	Directeur de thèse

# SOMMAIRE

<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>7</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>10</b>
<b>I LE GRAIN DE BLE ET LE COMPORTEMENT EN MOUTURE .....</b>	<b>10</b>
I-1 LE GRAIN DE BLE .....	10
I-1-1 L'albumen.....	11
I-1-1-1 Structure et composition de l'albumen.....	11
I-1-1-2 Texture de l'albumen .....	14
I-1-1-2-1 La dureté de l'albumen du grain .....	14
I-1-1-2-2 La vitrosité du grain.....	15
I-1-2 Le germe.....	15
I-1-3 Les enveloppes .....	16
I-2 LES CARACTERISTIQUES PHYSIQUES DU GRAIN.....	16
I-2-1 Le poids spécifique.....	16
I-2-2 Le poids de mille grains.....	16
I-3 LA MOUTURE ET LA REPARTITION DES DIFFERENTS TISSUS .....	17
<b>II INFLUENCE DE LA GENETIQUE ET DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA TEXTURE DU GRAIN .....</b>	<b>17</b>
II-1 INFLUENCE DE LA GENETIQUE SUR LA TEXTURE DU GRAIN.....	17
II-1-1 Influence de la génétique sur la dureté du grain.....	17
II-1-1-1 Rôle du Ha locus et des puroindolines sur la dureté du grain .....	17
II-1-1-2 Influence des autres facteurs liés au fond génétique sur la dureté du grain .....	19
II-1-2 Influence de la génétique sur la vitrosité du grain.....	20
II-2 INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT SUR LA TEXTURE DE L'ALBUMEN .....	20
II-2-1 Influence de l'environnement sur la dureté.....	20
II-2-2 Influence de l'environnement sur la vitrosité.....	21
<b>III RELATION ENTRE COMPOSITION BIOCHIMIQUE ET TEXTURE DE L'ALBUMEN .....</b>	<b>21</b>
III-1 RELATION ENTRE PUROINDOLINE-A, PUROINDOLINE-B ET LA TEXTURE DE L'ALBUMEN.....	21
DEVELOPPEMENT DES LIGNES QUASI-ISOGENIQUES POUR LA DURETE.....	22
III-2 ROLE DES LIPIDES DANS LA TEXTURE DE L'ALBUMEN.....	22
III-2-1 Interaction entre puroindolines et lipides.....	22
III-2-2 Relation entre lipides et texture .....	23
III-3 ROLE DES ARABINOXYLANES.....	24
<b>IV CORRELATION ENTRE LES CARACTERISTIQUES DES GRAINS .....</b>	<b>24</b>
V-1 1 Influence de la génétique et de l'environnement sur le PMG et le PS .....	25
V-1-1-1 Influence de la génétique sur le PMG et le PS.....	25
V-1-2 Influence de l'environnement sur le PMG et le PS.....	26
<b>VI LA MOUTURE ET LA REPARTITION DES DIFFERENTS TISSUS.....</b>	<b>29</b>
VI-1 LE NETTOYAGE ET LE CONDITIONNEMENT .....	29
VI-2 LA MOUTURE DU GRAIN .....	30
VI-3 CONSEQUENCE DE LA VARIABILITE DE LA TEXTURE SUR LE COMPORTEMENT EN MOUTURE.....	31
VI-4 MODELISATION DU MODE DE RUPTURE DE L'ALBUMEN EN FONCTION DE SA COMPOSITION ET STRUCTURE .....	33
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>36</b>
1 MATERIEL VEGETAL .....	36
2 CARACTERISATION DES GRAINS .....	38
2-1 DETERMINATION DE LA DURETE NIRS .....	38
2-2 EVALUATION DE LA VITROSITE .....	38
2-3 DETERMINATION DU HARDNESS INDEX .....	39
2-4 DETERMINATION DU POIDS SPECIFIQUE.....	39

2-5 DETERMINATION DU POIDS DE MILLE GRAINS (PMG), .....	39
3 MESURES DES MASSES VOLUMIQUES .....	39
4 MOUTURE DES GRAINS.....	39
5 MESURE DE LA GRANULOMETRIE DES PARTICULES DE GROSSES SEMOULES .....	41
6 ANALYSES BIOCHIMIQUES SUR LES GRAINS ET FRACTIONS DE MOUTURE .....	41
6-1 TENEUR EN PROTEINES DES GRAINS PAR LE NIRS .....	42
6-2 TENEUR EN PROTEINES KJELDAHL .....	42
6-3 EXTRACTION ET SEPARATION DES CLASSES DE PROTEINES PAR SE-HPLC .....	42
6-4 DOSAGE DES AMIDONS ENDOMMAGES .....	44
6-5 ANALYSE DES TAILLES DES GRANULES D'AMIDON.....	45
6-6 DOSAGE DES PUROINDOLINES AUTOUR DES GRANULES D'AMIDON .....	46
6-7 DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU .....	47
7 TRAITEMENTS STATISTIQUES .....	47
<b>CHAPITRE I : ETUDE DES EFFETS DES FACTEURS GENETIQUES ET AGRONOMIQUES SUR LA VARIABILITE DES CARACTERISTIQUES PHYSIQUES ET BIOCHIMIQUES DES GRAINS ...</b>	<b>48</b>
I ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DE LA RECOLTE 2007 .....	48
I-1 VARIABILITE DES CARACTERISTIQUES .....	48
I-2 INFLUENCE DES FACTEURS SUR LES CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS DE LA RECOLTE 2007.....	50
I-3 CORRELATION ENTRE LES CARACTERISTIQUES DES GRAINS .....	52
II ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DE LA RECOLTE 2008.....	53
II-1 VARIABILITE DES CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS.....	54
II-2 INFLUENCE DES FACTEURS SUR LES CARACTERISTIQUES DES LIGNEES DE LA RECOLTE 2008 .....	56
II-2-1 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NILA et NILB.....	56
II-2-2 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NIL1, NIL2, NIL3.....	59
II-3 CORRELATION ENTRE LES CARACTERISTIQUES DES GRAINS .....	62
II-3-1 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NILA et NILB .....	62
II-3-2 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NIL1, NIL2, NIL3 .....	63
III ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DE LA RECOLTE 2009 .....	64
III-1 VARIABILITE DES CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS DE LA RECOLTE 2009.....	64
III-2 INFLUENCE DES FACTEURS SUR LES CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS DE LA RECOLTE 2009 .....	67
III-2-1 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NILA et NILB. ....	67
III-2-2 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NIL1, NIL2, NIL3 .....	69
III-3 CORRELATION ENTRE LES CARACTERISTIQUES DES GRAINS .....	71
III-3-1 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NILA et NILB .....	71
III-3-2 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NIL1, NIL2, NIL3.....	72
IV ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DES GRAINS SUR L'ENSEMBLE DES DONNEES DES 3 ANNEES DE RECOLTE.....	73
IV-1 ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DES GRAINS DES LIGNEES NILA ET NILB SUR LES DONNEES DES ECHANTILLONS DES 14 LIEUX DE CULTURE SUR LES 3 ANNEES DE RECOLTE (2007- 2008 - 2009) .....	74
IV-2 ANALYSE DES CARACTERISTIQUES DES GRAINS DES LIGNEES NIL1, NIL2, NIL3 SUR LES DONNEES DES ECHANTILLONS DES 11 LIEUX DE CULTURE SUR LES 2 ANNEES DE RECOLTE (2008 - 2009) .....	75
V DISCUSSION .....	75
VARIABILITE DE LA DURETE NIRS .....	76
VARIABILITE DE LA VITROSITE.....	76
VARIABILITE DE LA TENEUR EN PROTEINES.....	77
VARIABILITE DU PMG .....	77
VARIABILITE DU PS .....	77
CLASSEMENT DES SOURCES DE VARIATIONS PAR NIVEAUX D'EFFET SUR LES CARACTERISTIQUES .....	78
CONCLUSION.....	79

<b>CHAPITRE II : ETUDE DES EFFETS DES FACTEURS GENETIQUES ET AGRONOMIQUES SUR L'APTITUDE A LA REDUCTION DE L'ALBUMEN.....</b>	<b>81</b>
<b>PARTIE 1 : ETUDE DES EFFETS DES FACTEURS GENETIQUES ET AGRONOMIQUES SUR L'APTITUDE A LA REDUCTION DE L'ALBUMEN POUR LES LIGNEES PORTANT LES ALLELES PINA-D1A/PINB-D1B ET PINA-D1A/PINB-D1B (NIL1, NIL2 ET NIL3).....</b>	<b>82</b>
RÉSUMÉ DE LA PARTIE 1 .....	82
<b>PARTIE 1: A STUDY OF PUROINDOLINE B INVOLVEMENT IN THE MILLING BEHAVIOR OF HARD TYPE COMMON WHEATS .....</b>	<b>83</b>
ABSTRACT.....	85
INTRODUCTION .....	86
MATERIALS AND METHODS .....	89
WHEAT MATERIAL AND FIELD CONDITIONS.....	89
MEASUREMENT OF PHYSICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE GRAIN.....	89
MILLING BEHAVIOR CHARACTERIZATION .....	90
PARTICLE SIZE DISTRIBUTION ANALYSIS .....	91
STATISTICAL ANALYSES.....	91
RESULTS AND DISCUSSION .....	92
NILS CONSTRUCTION AND GRAIN CHARACTERIZATION.....	92
NIL1 .....	93
NIL2 .....	93
NIL3 .....	93
SOISSONS .....	93
PINA-D1A/PINB-D1D .....	93
ENDOSPERM BREAKAGE ABILITY (EBA) AND GRAIN MILLING BEHAVIOR .....	96
STUDY OF THE PARTICLE SIZE BEFORE AND AFTER FARINA REDUCTION .....	100
CONCLUSIONS.....	106
<b>PARTIE 2 : ETUDE DES EFFETS DES FACTEURS GENETIQUES ET AGRONOMIQUES SUR L'APTITUDE A LA REDUCTION DE L'ALBUMEN POUR LES LIGNEES HARD/SOFT (NILA ET NILB, PORTANT LES COMBINAISONS D'ALLELES PINA-D1A/PINB-D1A ET PINA-D1A/PINB-D1B).....</b>	<b>108</b>
I PRESENTATION DES CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS DU SOUS-ENSEMBLE ETUDIE .....	108
II ETUDE DU COMPORTEMENT EN MOUTURE DES ECHANTILLONS DU SOUS-ENSEMBLE .....	111
II-1 ANALYSE DU COMPORTEMENT EN MOUTURE EU SEIN DES ECHANTILLONS DE TYPE SOFT (PINA-D1A/PINB-D1A) .....	116
II-2 ANALYSE DU COMPORTEMENT EN MOUTURE DES ECHANTILLONS DE TYPE HARD (PINA-D1A/PINB-D1B).....	120
III DISCUSSIONS.....	123
CONCLUSION.....	128
SYNTHESE DU CHAPITRE 2 .....	129
<b>CHAPITRE III : ETUDES DES BASES BIOCHIMIQUES DE LA VARIABILITE DE L'APTITUDE A LA REDUCTION DE L'ALBUMEN.....</b>	<b>131</b>
<b>PARTIE 1 : ETUDE DES BASES BIOCHIMIQUES DE L'APTITUDE A LA REDUCTION DE L'ALBUMEN DES BLES TENDRE DE TYPE HARD (PORTANT LES COMBINAISONS D'ALLELES PINA-D1A/PINB-D1B ET PINA-D1A/PINB-D1D).....</b>	<b>133</b>
I RESULTATS.....	133
I-1 PRESENTATION DES CARACTERISTIQUES DES GRAINS ETUDIES, DE LEURS APTITUDES A REDUIRE LES SEMOULES EN SEMOULES EN FARINE, ET DES TAUX D'AMIDONS ENDOMMAGES DES FARINES ISSUES DE LA REDUCTION DES SEMOULES .....	133

I-1-1 Sources de variation des caractéristiques et paramètres étudiés.....	134
I-1-2 Corrélations entre les paramètres des échantillons analysés.....	138
I-2 ETUDE DU ROLE DES PRINCIPAUX COMPOSES BIOCHIMIQUES DES GROSSES SEMOULES SUR LA VARIATION DE L'APTITUDE A LA REDUCTION DES GROSSES SEMOULES.....	140
I-2-1 Rôle de la variation des pourcentages relatifs de gliadines, de gluténines, d'albumines et globulines et de la fraction insoluble de protéines par rapport aux protéines totales.....	140
I-2-2 Rôle de la variation des pourcentages relatifs des granules d'amidon de type A, B et C.....	146
II DISCUSSION .....	149
<b>PARTIE 2 : ETUDE DES BASES BIOCHIMIQUES DE L'APTITUDE A LA REDUCTION DE L'ALBUMEN DES BLES TENDRE DE TYPE SOFT (PORTANT LES ALLELES PINA-D1A/PINB-D1A</b>	<b>151</b>
.....	
I RELATION ENTRE L'APTITUDE A LA REDUCTION DES GROSSES SEMOULES ET CARACTERISTIQUES DE DURETE ET DE VITROSITE DES GRAINS.....	151
II ETUDE DU ROLE DE LA VARIATION DES POURCENTAGES VOLUMIQUES DES GRANULES DE TYPE A, B, C, ET DES POURCENTAGES DE GLIADINES, GLUTENINES, ALBUMINES ET GLOBULINES, ET FRACTION INSOLUBLE DE PROTEINES SUR L'APTITUDE A LA REDUCTION DES GROSSES SEMOULES .....	153
II-1 ROLE DE LA VARIATION DES POURCENTAGES RELATIFS DE GLIADINES, GLUTENINES, ALBUMINES ET GLOBULINES, ET FRACTION INSOLUBLE DE LA MATRICE PROTEIQUE .....	153
II-2 ROLE DE LA VARIATION DES POURCENTAGES VOLUMIQUES DES GRANULES D'AMIDON DE TYPES A, B ET C. ....	154
III DISCUSSION.....	155
<b>DISCUSSION GENERALE.....</b>	<b>156</b>
I VARIABILITE DES CARACTERISTIQUES DE TEXTURE DU GRAIN .....	156
I-1 VARIABILITE DE LA DURETE NIRS .....	156
I-2 VARIABILITE DE LA VITROSITE .....	157
I-3 RELATION ENTRE LA DURETE SKCS, DURETE NIRS ET LA VITROSITE.....	157
I-4 VARIABILITE DE LA TENEUR EN PROTEINES ET LA CORRELATION AVEC LA VITROSITE .....	158
II ETUDE DE LA VARIABILITE DE L'APTITUDE A LA REDUCTION DE L'ALBUMEN.....	159
II-1 AU SEIN DES ECHANTILLONS SOFT DES LIGNEES NILA ET NILB.....	159
II-2 AU SEIN DES ECHANTILLONS HARD DES LIGNEES NILA ET NILB.....	159
II-3 CONTRIBUTION DE L'APTITUDE A LA REDUCTION DES SEMOULES AU RENDEMENT EN FARINE TOTALE ....	160
III ETUDE DU LIEN ENTRE VARIABILITE DE L'APTITUDE A LA REDUCTION DES SEMOULES ET VARIABILITE DES COMPOSES BIOCHIMIQUES MAJEURS .....	160
III-1 ETUDE CHEZ LES ECHANTILLONS HARD PORTANT LES COMBINAISONS D'ALLELES PINA-D1A/PINB-D1B ET PINA-D1A/PINB-D1D. ....	160
III-2 ETUDE CHEZ LES ECHANTILLONS SOFT.....	161
III ETUDE DE LA SEPARABILITE ENTRE L'AMANDE ET LES ENVELOPPES .....	162
<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>163</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>177</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>196</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>200</b>

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

Pin-a : Allèle de puroindolines A

Pin-b : Allèle de puroindoline B

PINs : Protéines puroindolines

PIN-A : Protéines puroindolines A

PIN-B : Protéines Puroindoline B

DRT : Domaine riche en tryptophane

SEC: Size Exclusion Chromatography

RP-HPLC: Reverse Phase –High Performance Liquid Chromatography

PMG: Poids de Mille Grains

PS: Poids Spécifique

SKCS: Single Kernel Characterisation System.

ARA : aptitude à la réduction de l'albumen

Farine B1 : Pourcentage de farine produite au broyage B1

G Sem B1 : Pourcentage de grosses semoules produites au broyage B1

G Sem: Pourcentage total de grosses semoules produites au cours de la mouture

F Sem: Pourcentage de fine semoules produites au cours de la mouture

FCL/GSem: Pourcentage de farine produite lors de la réduction des grosses semoules au Claquage

FCL/GSem B1: Pourcentage de farine produite lors de la réduction des grosses semoules du B1 au Claquage

FC1/FSem: Pourcentage de farine produite lors de la réduction des fines semoules au Convertissage

Sons: Pourcentage de sons totaux obtenus à la fin de la mouture

Rem: Pourcentage de remoulages obtenus à la fin de la mouture

Rdt: rendement en farine totale obtenu à la fin de la mouture

ANOVA : Analyse de la variance

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

UFS : Union Française des Semenciers

ANMF : Association Nationale de la Meunerie Française

ENILIA : Ecole Nationale d'Industrie Laitière et des Industries Agroalimentaires

IRTAC : Institut de Recherches Technologiques Agroalimentaires des Céréales

## INTRODUCTION

La première transformation du blé tendre consiste à séparer l'albumen amylicé des tissus périphériques, puis à le réduire en farine au cours d'un procédé appelé mouture. L'aptitude à la première transformation du blé constitue un facteur déterminant pour la commercialisation du blé car elle contrôle le rendement final en farine et la qualité de cette dernière. Elle a permis de définir la valeur meunière d'un blé qui correspond à son aptitude à produire un rendement élevé en farine de pureté déterminée et au meilleur coût (faible énergie dépensée) de fabrication (Abecassis 1993). La valeur meunière du blé tendre est liée aux caractéristiques intrinsèques des grains qui sont la morphologie des grains, la dureté du grain, la friabilité des tissus périphériques et l'aptitude à la séparation entre l'amande et les enveloppes. Si une grande variabilité de la valeur meunière a été observée par les meuniers en lien avec des facteurs génétiques et environnementaux, les connaissances scientifiques des bases de cette variabilité sont actuellement insuffisantes. Plusieurs travaux ont été réalisés ces dernières décennies et ont permis de montrer qu'une très large part de la variabilité du comportement en mouture du blé tendre est contrôlée par la texture soft ou hard des grains. Cependant les bases de la variabilité des échantillons présentant la même texture soft ou hard ont été très peu étudiées.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du Consortium Valeur Meunière II, démarré en 2006, et qui regroupe plusieurs partenaires (ARVALIS - Institut du Végétal, l'ANMF, l'UFS, BÜHLER, CHOPIN TECHNOLOGIES, DANONE, l'ENILIA, l'INRA et l'IRTAC). L'objectif de ce travail est d'étudier les bases biochimiques et physicochimiques de la variabilité de la valeur meunière.

L'étude de la valeur meunière comporte 3 parties : L'aptitude à la réduction de l'albumen, la séparabilité entre l'amande et les enveloppes, et la friabilité des enveloppes.

Ce travail a été particulièrement orienté vers l'étude de l'aptitude à la réduction de l'albumen à l'aide de 5 lignées quasi-isogéniques pour la dureté qui ont été cultivées dans différents lieux, apport azoté et année pour disposer d'un panel d'échantillons présentant des textures différentes. Les 5 lignées quasi-isogéniques étudiées sont de 2 types : d'une part 2 lignées ont des échantillons qui diffèrent par les combinaisons d'allèles de puroindolines Pina-D1a/Pinb-D1a (soft) et Pina-D1a/Pinb-D1b (hard), et d'autre part 3 lignées ont des échantillons qui diffèrent par les combinaisons d'allèles de puroindolines Pina-D1a/Pinb-D1b (hard) et Pina-D1a/Pinb-D1d (hard). Un des buts du travail était de chercher à identifier des marqueurs

capables de prédire l'aptitude à la réduction de l'albumen des grains en lien avec leurs caractéristiques.

Ce document comporte 5 parties :

La première partie est la synthèse bibliographique qui a permis de présenter les connaissances actuelles sur la structure du grain de blé, les caractéristiques physiques (la dureté, la vitrosité, le PMG et le PS) et biochimiques (la teneur en protéines) utilisées pour caractériser les grains, sur le procédé de mouture, et sur l'influence de la génétique et de l'environnement sur les caractéristiques des grains d'une part, et sur le comportement en mouture d'autre part.

La deuxième partie présente les matériels et méthodes utilisés dans cette étude. Les 5 lignées quasi-isogéniques utilisées dans cette étude sont décrites, ainsi que le plan de culture des grains qui comporte 3 années de récolte et 7 lieux de culture par année de récolte. Les méthodes de caractérisation des grains et les méthodes d'analyses biochimiques et physicochimiques sont également présentées.

La troisième partie présente les résultats de ce travail. Cette partie est divisée en 4 chapitres :

- Le chapitre 1 présente les effets des sources de variation sur les caractéristiques de l'ensemble des échantillons récoltés sur les 3 années de récolte. Les effets du fond génétique, des combinaisons d'allèles de Puroindoline-a et -b, de l'année de la récolte, du lieu de culture et du niveau d'azote sur les caractéristiques des grains sont présentés. Enfin les corrélations entre les caractéristiques des grains sont discutées.
  
- Le chapitre 2 présente l'étude de la variation du comportement en mouture en lien avec le fond génétique, la combinaison d'allèles de Puroindolines, l'année de récolte, le lieu de culture et le niveau d'azote. Ce chapitre est divisé en 2 parties en fonction de la nature des lignées analysées. La 1<sup>ère</sup> partie présente l'étude de la variation du comportement en mouture pour les 2 lignées dont les échantillons diffèrent par les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (soft) et Pina-D1a/pinb-D1b (hard) (lignées présentant des couples hard/soft), tandis que la 2<sup>ème</sup> partie présente l'étude pour les 3 lignées dont les échantillons diffèrent par les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b (hard) et Pina-D1a/Pinb-D1d (hard). Cette partie correspond à un article qui a été soumis pour publication à Cereal Chemistry en mai 2011. Dans ces 2 parties les effets des facteurs génétiques et environnementaux, et des caractéristiques



des grains ont été discutés au sein des échantillons présentant des caractéristiques semblables.

- Le chapitre 3 présente l'étude des bases biochimiques et physicochimiques de la variabilité de l'aptitude à la réduction de l'albumen. Ce chapitre est également divisé en 2 parties en fonction de la texture des échantillons étudiés. Pour les échantillons de type hard comme pour ceux de texture soft, les effets des facteurs génétiques et environnementaux sur la composition biochimique notamment sur les tailles des granules d'amidon (pourcentages volumiques des granules de types A, B, C), sur la teneur en puroindoline autour des granules d'amidon, sur la distribution en classes de protéines (pourcentages relatifs de gliadines, gluténines, albumines et globulines, et fraction insoluble de protéines par rapport aux protéines totales) ont été évalués à partir de quelques échantillons des lignées caractérisées par les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b, Pina-D1a/Pinb-D1d et Pina-D1a/Pinb-D1a. Une tentative de généralisation a été faite à partir de 4 cultivars de blés hard et 2 cultivars de blés soft.
- Le chapitre 4 présente la discussion générale. Les liens entre les facteurs génétiques et environnementaux, les caractéristiques des grains, la structuration physico-chimique de l'albumen et l'aptitude à la réduction de l'albumen sont discutés.

La quatrième et dernière partie de ce document présente les conclusions et perspectives du travail. Les hypothèses formulées pour expliquer les bases biochimiques et physicochimiques de l'aptitude à la réduction de l'albumen sont présentées.

# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## I Le grain de blé et le comportement en mouture

### I-1 Le grain de blé

Le blé est une plante de type monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* et à la famille des Gramineae. Les deux espèces les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*). Le grain de blé est un fruit sec appelé caryopse constitué d'une graine et de téguments. Il a une forme ovoïde et est marqué sur toute la longueur de sa face ventrale par une invagination appelée « Sillon ». La brosse est située à son extrémité la plus arrondie tandis que le germe est à l'extrémité opposée. Il a une masse comprise entre 20 et 50mg et mesure 5 à 7mm de longueur ; 2,5 à 4 mm de largeur et 2,5 à 3,5 mm d'épaisseur.

Le blé tendre est une plante hexaploïde possédant trois génomes : AA, BB et DD qui sont constitués chacun de 7 paires de chromosomes numérotés de 1 à 7, soit un total de 42 chromosomes. L'embryon et l'albumen sont les résultats de fécondations séparées. L'embryon est issu de la fusion entre un noyau du pollen et une cellule oeuf, il est donc diploïde. L'albumen est triploïde car provenant de la fusion entre un noyau de pollen et deux noyaux du sac embryonnaire.

Le grain de blé est constitué de 3 grandes parties qui sont l'albumen (80 %), le germe (3%) et les enveloppes (17%) (Figure 1).

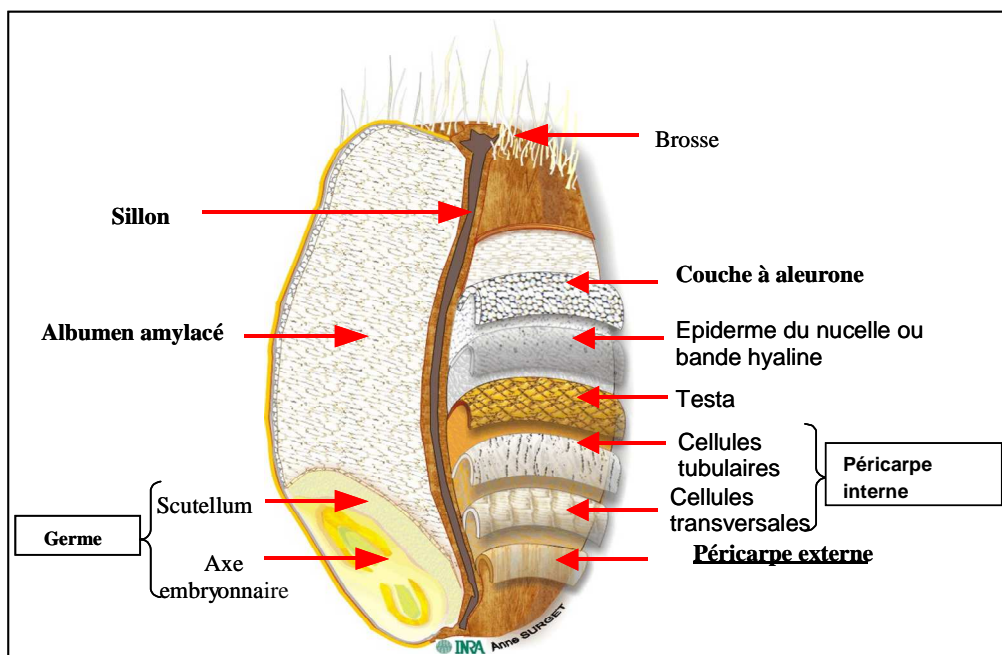


Figure 1: Coupe longitudinale et transversale d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005)

## I-1-1 L'albumen

### I-1-1-1 Structure et composition de l'albumen

L'albumen est constitué par la couche à aleurone et l'albumen amylicé. La couche à aleurone est un tissu constitué d'une assise cellulaire (Antoine et al. 2002) très riche en protéines et en lipides, mais aussi en micronutriments (tels que les vitamines du groupe B et les minéraux) et qui représente environ 7% du grain (Evers and Reed 1988). C'est un tissu vivant, qui participe à l'alimentation de l'embryon au cours de la germination. Son épaisseur est variable (40 à 60 $\mu$ m) en fonction de la localisation dans le grain. Les cellules contiennent un gros noyau entouré de vacuoles de 2 à 4  $\mu$ m que l'on nomme grains d'aleurone (Stevenson et al. 2007). Chaque grain est composé de lipides associés à des phytates (type I) ou de la niacine (vitamine B6) et des protéines (type II).

L'albumen amylicé représente 84 à 86% du grain sec (Pomeranz 1982). Les cellules sont essentiellement composées d'amidon (environ 82%) présenté sous forme de granules enchâssés dans une matrice protéique (environ 12% de l'albumen amylicé).

Ces granules sont constitués de deux types de polymère de glucose que sont l'amylose et l'amylopectine (Medcalf and Gilles 1965) en proportions respectives de 25 à 30% et de 70 à 75% environ (Colonna et Buléon, 1992). L'amylose est formé de longues chaînes linéaires de monomères de D-glucopyranose reliées par des liaisons glycosidiques en  $\alpha(1-4)$  (Figure 2) et son poids moléculaire est compris entre 100 et 1 000 kDa (Hoseney, 1994). L'amylopectine est une molécule ramifiée de poids moléculaire plus élevé (10 000 à 100 000 kDa), constituée de chaînes principales de monomères de D-glucopyranose reliées par des liaisons glycosidiques en  $\alpha(1-4)$ , sur lesquelles des chaînes latérales identiques viennent se brancher par des liaisons  $\alpha(1-6)$  (Colonna et Buléon, 1992) (Figure 2) (Lineback and Rasper 1988).

Les diamètres des granules d'amidon sont très variables, comprises entre 1 et 50 $\mu$ m. L'analyse de la distribution volumique des tailles des granules d'amidon a montré des distributions bimodales ou trimodales selon les auteurs. En effet plusieurs auteurs ont identifié une distribution bimodale (Dengate and Meredith 1984; Evers and Lindley 1977; Karlsson et al. 1983; Morrison and Scott 1986; Simmonds and O'Brien 1981; Wooding et al. 2000), ce qui leur a permis de classer en deux types selon leurs tailles: - les granules de tailles comprises entre 10 et 50 $\mu$ m ont été classés comme le TYPE A (gros granules) tandis que ceux de tailles comprises entre 1 et 10 $\mu$ m ont été classés comme TYPE B (petits granules). Cependant d'autres auteurs ont identifié une distribution trimodale des pourcentages volumiques des

granules (Bechtel et al. 1990; Dai et al. 2009; Edwards et al. 2008; Raeker et al. 1998), ce qui leur a permis de classer les granules en trois classes : les granules de tailles comprises entre 16 et 50 $\mu\text{m}$  ont été classés comme TYPE A, ceux de tailles comprises entre 5 et 16  $\mu\text{m}$  classés comme TYPE B et ceux de tailles comprises entre 1 et 5  $\mu\text{m}$  classés comme TYPE C. Les valeurs exactes des frontières entre les différents types de granules varient d'un auteur à un autre et en fonction de la méthode d'analyse ; elles ne sont donc pas encore établies avec précision.

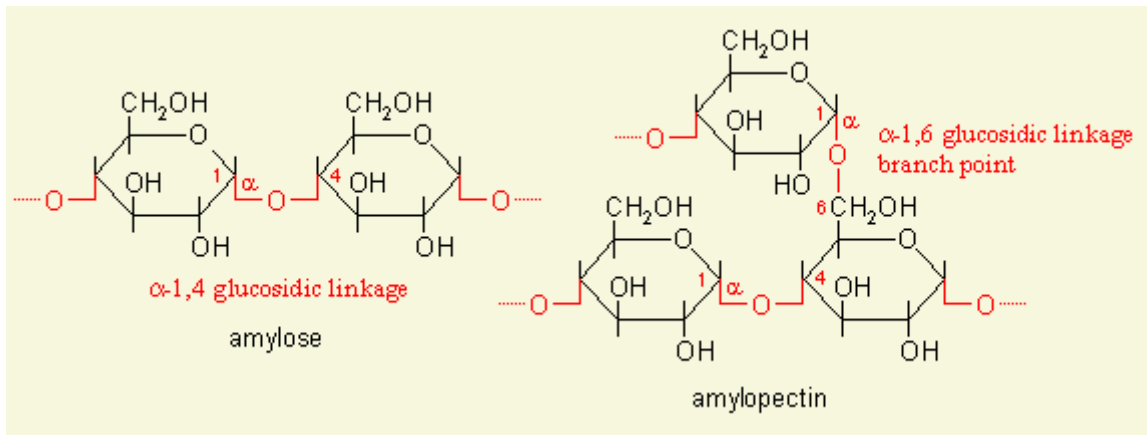


Figure 2: Structure de l'amylose et de l'amylopectine

Plusieurs études ont mentionné des variations dans la constitution des granules d'amidon en fonction de leurs tailles. Ainsi, la concentration en amylose serait plus importante dans les granules de type A par rapport aux granules de Type B (Geera et al. 2006; Yelun et al. 2009). De même, le taux de phosphore et d'amylose lipidique serait plus faible dans les granules de type A par rapport au type B (Shinde et al. 2003).

D'autre part, des études ont montré que les granules d'amidon du blé contiennent des canaux qui permettent à certaines molécules, notamment des protéines et des lipides, d'entrer dans la matrice des granules (Han et al. 2005; Kim and Huber 2008). Ces canaux ont aussi été observés sur les granules d'amidon d'autres céréales tels que le maïs et le sorgho (Han et al. 2005; Lee and BeMiller 2008).

Les protéines représentent environ 12% de l'albumen du grain. Leurs tailles, formes et propriétés fonctionnelles sont très diversifiées. Elles ont été classées par Osborne (1907) en quatre groupes en fonction de leur solubilité dans différents solvants :

- Le groupe des albumines, composé des protéines solubles dans l'eau;
- Le groupe des globulines, composé des protéines solubles dans les solutions salines diluées.

- Le groupe des gliadines, composé de protéines solubles dans les alcools dilués de type éthanol 70%;
- Le groupe des gluténines, composé de protéines insolubles dans les solvants précédents et partiellement solubles dans les solutions acides et basiques diluées.

Les albumines et globulines, sont les protéines métaboliques du grain de blé et sont regroupées sous le terme de protéines solubles. Elles sont constituées d'un ensemble de protéines de faible poids moléculaire (10-60 kDa) et présentent généralement une activité enzymatique.

Les gliadines et gluténines, constituent les protéines de réserve du grain de blé. Les gliadines constituent un mélange hétérogène de protéines monomériques, riches en résidus glutamine et proline (Bushuk et Wrigley, 1974). Les gluténines constituent un mélange très hétérogène de larges protéines polymériques, dont le poids moléculaire varie de quelques centaines à plusieurs millions de Da (Huebner et Wall, 1976, 1980; Bottomley et al. 1982; Wrigley, 1996; Veraverbeke et Delcour, 2002).

Les autres constituants de l'albumen sont les lipides (environ 2%), les sucres réducteurs (environ 1,8%), les arabinoxylanes (1,6%).

Les lipides du blé sont classés en deux groupes : les lipides neutres et les lipides polaires. Les proportions de ces classes de lipides varient en fonction de plusieurs facteurs (variété, lieu.)

Les lipides polaires représentent environ 30% des lipides du blé et sont constitués de glycolipides (environ 12%) et de phospholipides (environ 18%) (Konopka et al. 2005).

Les arabinoxylanes (AX) sont les composés majoritaires des parois cellulaires de l'albumen. Ce sont des hétéropolymères constitués d'une chaîne linéaire de xylose associés par des liaisons  $\beta$ -(1-4), sur lesquels sont greffées des molécules d'arabinose (Gruppen et al. 1993).

Les molécules d'arabinose sont distribuées irrégulièrement et peuvent porter des molécules d'acide férulique estérifiées (Figure 3). On distingue les AX solubles et AX insolubles en fonction de leur solubilité dans l'eau froide (Cleemput et al. 1993; Goesaert et al. 2005).

L'insolubilité des AX s'expliquerait par un poids moléculaire des AX insolubles (100-530 kDa) plus élevé que celui des AX solubles (20-120 kDa) et par un enchevêtrement des molécules plus important (Dervilly-Pinel et al. 2001; Fincher and Stone 1986; Girhammar and Nair 1992; Jelaca and Hlynka 1971; Patil et al. 1975; Rattan et al. 1994).

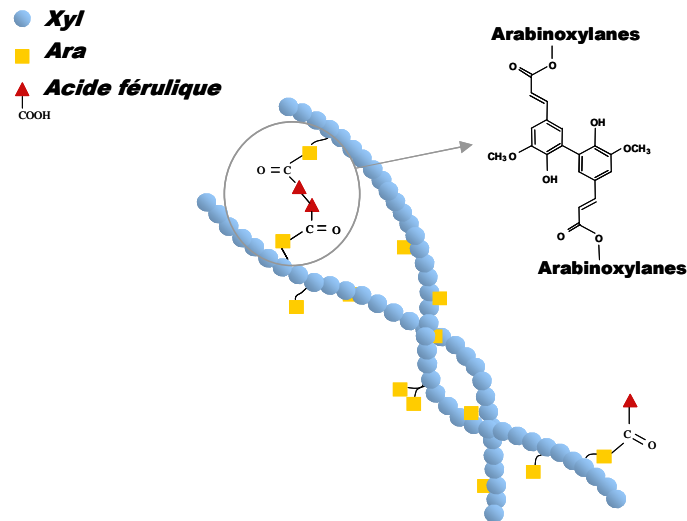


Figure 3: Structure des arabinoxylanes

### I-1-1-2 Texture de l'albumen

La texture de l'albumen du grain de blé est une propriété physique complexe qui résulte de sa composition biochimique et de la structuration de ses composés. Elle se traduit au final par deux principaux paramètres du grain, la dureté et la vitrosité qui sont parfois confondues par les meuniers.

#### I-1-1-2-1 La dureté de l'albumen du grain

La dureté du grain de blé est un paramètre physique qui est défini comme étant la résistance à une force de déformation (Greenaway 1969). Ce paramètre est génétiquement contrôlé et permet de distinguer les blés hard des blés soft. Bien que la dureté soit une caractéristique du grain entier, elle est essentiellement déterminée par les propriétés physiques de l'albumen amylopectine qui constitue la majeure partie du grain. Il existe plusieurs méthodes de mesure de la dureté.

Le PSI (Particle Size Index) est une méthode indirecte utilisée pour déterminer la dureté du grain. Cette méthode consiste à moulinner une quantité précise de grains puis à déterminer le pourcentage de la masse du produit qui passe au travers d'un tamis de 75µm. Les blés hard présentent alors des valeurs PSI plus faibles que les soft (Worzella and Culter 1939).

La dureté de l'albumen peut également être déterminée par spectroscopie dans le proche infrarouge ou NIRS (near infra-red spectroscopy) (Delwiche 1993; Williams 1979). Elle est basée sur l'analyse du spectre infrarouge d'un broyat de grain. Elle a été calibrée à partir du PSI, et est exprimée par un nombre entier compris entre 0 et 100. Le nombre 25 représente la

moyenne de dureté des blés de type soft tandis que 75 représente la moyenne des blés de type hard. L'avantage de cette méthode est surtout la rapidité de l'analyse.

Le SKCS (Single Kernel Characterisation System) est une méthode directe de mesure de la dureté car il est basé sur la définition de la texture du grain. En effet il mesure la force requise (ou hardness index, HI) pour écraser les grains individuels d'un échantillon entre deux surfaces en tenant compte du poids, du diamètre et de l'humidité des grains. Selon cette méthode, les blés hard ont des valeurs autour de 75 tandis que les soft ont des valeurs inférieures ou égales à 30. Le SKCS est la méthode la plus largement utilisée pour décrire la texture des échantillons.

#### I-1-1-2-2 La vitrosité du grain

La vitrosité est un autre type de paramètre permettant de décrire la texture du grain. Elle est évaluée par une mesure visuelle qui permet de distinguer les grains dits « vitreux » car ayant un aspect translucide, des grains dits « farineux » ayant un aspect opaque.

Plusieurs travaux indiquent que la vitrosité est liée à la structure de l'albumen amylicé, les vitreux présentant une structure très compacte alors que les farineux présentent de nombreuses vacuoles d'air (Dexter et al. 1989; Sadowska et al. 1999). Les travaux de Sharp et al (1927) ont montré que les grains farineux ont de faibles densités par rapport aux grains vitreux, et ont attribué les faibles densités et la farinosité à une forte porosité de l'albumen

Les grains vitreux nécessitent une force supérieure pour être cassés (Dobraszczyk 1994; Haddad et al. 1998; Haddad et al. 2001) et présentent une structure plus dense donc moins poreuse que celle des blés farineux (Glenn and Saunders 1990). Ainsi, la vitrosité participe aux propriétés mécaniques du grain et pourrait influencer sur le comportement en mouture (Greffeuille et al. 2006b).

Des tests de pénétrométrie ou de compressions permettent aussi d'évaluer la texture de l'albumen du grain (Gaines et al. 1996; Glenn et al. 1991; Haddad et al. 1998; Muhamad and Campbell 2004; Obuchowski et al.)

#### I-1-2 Le germe

Le germe est constitué par l'axe embryonnaire qui est recouvert du scutellum : Il constitue environ 3% du grain.

### I-1-3 Les enveloppes

Les enveloppes sont constituées de plusieurs tissus que sont le péricarpe, le testa, la bande hyaline. Le péricarpe ou tégument du fruit, regroupe les tissus les plus externes du grain et représente environ 5% du poids du grain (Hoseney 1986; Pomeranz 1988). Il se compose de deux parties distinctes : le péricarpe externe et le péricarpe interne.

Le testa constitue l'enveloppe de la graine et est constitué d'une cuticule qui recouvre deux couches cellulaires dont au moins une est pigmentée. Le testa est très fin (5 à 8µm) et la superposition des cellules allongées lui donne l'aspect d'un maillage dense (Bradbury et al. 1956).

La bande hyaline ou encore épiderme du nucelle, est aussi recouverte d'une fine cuticule. Le testa et la bande hyaline sont des tissus très fins qui ont la particularité de contenir des composés lipidiques, notamment de la cutine (Matzke and Riederer 1990)

## I-2 Les caractéristiques physiques du grain

### I-2-1 Le poids spécifique

Le poids spécifique (ou : poids à l'hectolitre, densité apparente à l'hectolitre, masse naturelle, masse apparente à l'hectolitre) est une des caractéristiques les plus utilisées pour apprécier la valeur commerciale des blés. C'est le nombre de kilogramme de blé contenus dans un hectolitre (100) litres). Il est utilisé dans les transactions commerciales pour fixer le prix du blé.

Le poids spécifique est très critiqué car sans grande signification scientifique, hors des normes de physique, et influencé par de nombreux facteurs (pureté du lot, homogénéité, espace inter-granulaire...). Cependant il demeure pourtant une détermination officielle encore citée dans les textes réglementaires, les décrets de campagne céréalière. Il reste donc systématiquement utilisé dans le commerce des grains où il peut donner lieu à des bonifications ou à des réfections.

### I-2-2 Le poids de mille grains

C'est la masse de 1000 grains à une teneur en eau donnée au moment de la détermination. C'est une caractéristique qui permet d'évaluer le remplissage du grain. Les grains échaudés, ceux qui ont souffert de mauvaises conditions de croissance, petits, « mal nourris », ou ceux qui ont été partiellement vidés de leur amande par des prédateurs aux champs ou lors du stockage, vont donner une masse bien inférieure à la normale.



### I-3 La mouture et la répartition des différents tissus

La mouture du blé tendre constitue une étape très importante lors de sa transformation en produit alimentaire ou non alimentaire. Elle permet de séparer l'albumen amylicé du grain de ses tissus périphériques puis de le réduire en particules de petites tailles (<200µm). La forme et la structure particulière du grain, notamment la présence du sillon, font que la première transformation nécessite l'ouverture du grain suivie de l'extraction progressive de l'albumen amylicé. Deux phases de préparation des grains, le nettoyage et le conditionnement des grains, précèdent la mouture proprement dite.

## II Influence de la génétique et de l'environnement sur la texture du grain

### II-1 Influence de la génétique sur la texture du grain

#### II-1-1 Influence de la génétique sur la dureté du grain

##### II-1-1-1 Rôle du Ha locus et des puroindolines sur la dureté du grain

La dureté du blé est un facteur génétique contrôlé par un QTL majeur (Morrison et al. 1989) appelé Ha (Hardness) locus (Law et al. 1978; Mattern et al. 1973). Ce Ha locus qui contrôle une grande partie de la dureté du blé a été localisé sur le bras court du chromosome 5D. Sur ce locus se trouvent les gènes qui codent pour une famille de protéines appelée puroindolines. Ces protéines ont été retrouvées en abondance autour des granules d'amidon de blés de type soft, alors qu'elles sont en plus faibles quantités chez les blés de type hard, ou même absentes chez le blé dur (puisque de génome D est absent dans cette espèce), ce qui a permis de formuler les premières hypothèses sur leur implication dans la dureté des grains.

Les puroindolines sont des protéines basiques riches en cystéine, avec un poids moléculaire moyen d'environ 12,8 kDa, et qui possèdent un unique domaine amphiphile riche en tryptophane (DRT) (Blochet et al. 1993). Le nom puroindoline provient du grec « puros » qui désigne le blé, et « indoline » faisant référence à son noyau indole trouvé dans les tryptophanes (Gautier et al. 1994).

Deux types de puroindolines, la puroindoline-a (PIN-A) et la puroindoline-b (PIN-B), ont été identifiés. Les gènes codant pour la PIN-A (Pin-a) et le PIN-B (Pin-b) présentent environ 50% de similarité entre les nucléotides. Le DRT diffère entre les 2 types de puroindolines. Chez la puroindoline-a le DRT est constitué de 5 résidus tryptophanes et 3 résidus basiques (WRWWKWWK) tandis que chez la puroindoline-b il y a 3 résidus tryptophane et 3 résidus basiques (WPTKWWK) (Figure 4).

Les séquences des acides aminés des puroindoline-a et puroindoline-b ont été étudiées sur des variétés cultivées à travers le monde (Giroux and Morris 1998; Lillemo and Morris 2000; Turnbull et al. 2000), et plusieurs mutations dans la séquence des acides aminés ont été identifiées.

Les différentes mutations de ces allèles observées avant l'année 2008 ont été présentées dans la revue de Gollan et al. (2007). La première mutation identifiée pour le gène Pin-a est une mutation nulle (délétion du Pin-a) qui correspond à l'absence des puroindoline-a, et est désignée par l'allèle Pina-D1b (Chen et al. 2006; Giroux and Morris 1998; Lillemo et al. 2006; Lillemo and Morris 2000; Morris 2002). Wei et al. (2006) ont identifié les allèles Pina-D1n et Pina-D1m qui correspondent respectivement à une coupure prématurée du codon au niveau du tryptophane 43, et à une substitution de la proline 35 par une serine. Des mutations correspondant à une insertion ou une suppression de nucléotides dans le gène Pina ont également été notées (Chen et al. 2006; Gazza et al. 2005).

```

puroin-a      1          10          20          30          40          50
puroin-b      -DVAGGGGAQQCPVE T -KLNSCRNYLLDRCSTMKDFPVTWRWWKWWKGGCQ-EL LGECSSRL
                * . * * * * : * * * *      * * . * * : * : : * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
                * . * * * * : * * * *      * * . * * : * : : * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

puroin-a      60          70          80          90          100         110         120
puroin-b      GQMPQQCRNI IQGSIQGD LGGIFGQRDRASKVIQ EAKNLPPRCNQGPCCN I PGTIGYYW
                * : : * * * * * : * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * *
                * : : * * * * * : * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * * : * *

```

Figure 4: Alignement des séquences des puroindolines a et b du blé par le logiciel CLUSTAL W. Dans la séquence consensus, (\*) marquent les acides aminés identiques dans les 2 séquences, (:) indique des substitutions d'acides aminés de type conservateur, (.) indique des substitutions de type semi-conservé. Codes : A : Alanine ; C : Cystéine ; D : Acide aspartique ; E: Acide glutamique ; F : Phénylalanine ; G : Glycine ; H : Histidine ; I : Isoleucine ; K : Lysine ; L : Leucine ; M : Méthionine ; N : Asparagine ; O : Pyrrolysine ; P : Proline ; Q : Glutamine ; R : Arginine ; S : Sérine ; T : Thréonine ; U : Sélénocystéine ; V : Valine ; W : Tryptophane ; Y : Tyrosine.

Le gène Pin-b présente aussi des mutations similaires au gène Pin-a. La plupart des études mentionnant la délétion du Pin-b ont montré que cette mutation est très souvent associée à une délétion du Pin-a (Chang et al. 2006; Ikeda et al. 2005; Tanaka et al. 2008). Une seule étude a mentionné la délétion de Pin-b seul (Chen et al. 2006).

Les mutations correspondant à une substitution de nucléotides ou à l'arrêt prématuré du codon ont été identifiées. La substitution de la glycine 45 par une serine correspond à l'allèle Pinb-D1b (Cane et al. 2004; Chang et al. 2006; Chen et al. 2006; Giroux and Morris 1997; Ikeda et al. 2005; Lillemo et al. 2006; Pickering and Bhave 2007; Tanaka et al. 2008).

De même les allèles Pinb-D1c et Pinb-D1d correspondant respectivement aux substitutions de la leucine 60 par la proline, et du tryptophane 44 par l'arginine ont été mentionnés par Morris

(2002). Cette même étude a aussi mentionné les allèles Pinb-D1e, Pinb-D1f et Pinb-D1g caractérisés par l'arrêt prématuré du codon aux niveaux du tryptophane 39, tryptophane 44 et cystéine 56 respectivement.

Les mutations correspondant à l'insertion ou à la délétion de nucléotides ont été également identifiées pour le gène Pinb. Xia et al. (2005) a mentionné l'allèle Pinb-D1p caractérisé par le remplacement de la lysine 42 par l'asparagine chez plusieurs blés hard chinois, conduisant à un seul tryptophane dans le DRT et à l'arrêt prématuré du codon. Raman et al. (2009) ont mentionné un cas d'insertion de nucléotide conduisant au remplacement de la glutamine 14 par la glycine suivi d'un décalage de la mutation qui élimine le domaine riche en tryptophane et génère un arrêt du codon au résidu 48.

Les formes alléliques les plus fréquemment retrouvées parmi les blés utilisés sont la forme Pina-D1b/Pinb-D1a (absence de PIN-A) et la forme Pina-D1a/Pinb-D1b (substitution de la glycine 45 par la sérine dans la séquence de la PIN-B) (Giroux and Morris 1997; Giroux and Morris 1998; Hogg et al. 2005; Huang and Roder 2005).

Selon la plupart des études, les puroindolines seraient localisées essentiellement dans l'albumen amylicé (Lesage et al. 2011; Wiley et al. 2007), mais certains auteurs ont localisé la PIN-B dans la couche à aleurone (Capparelli et al. 2005; Dubreil et al. 1998)

## II-1-1-2 Influence des autres facteurs liés au fond génétique sur la dureté du grain

Hormis le Ha locus, plusieurs études ont montré que d'autres parties du génome jouent un rôle dans la dureté du blé. Ainsi Sourdille et al. (1996) ont identifié, en plus du Hardness locus qui explique 63% de la variabilité, 4 QTL supplémentaires de la dureté sur les chromosomes 2A, 2D, 5B et 6D, et 3 autres sur les chromosomes 5A, 5D et 7A présentant des effets d'interaction avec le facteur environnement. De même, dans une étude basée sur une population de 78 lignées recombinantes F2:5 issues d'un croisement hard/soft, et visant à identifier les QTL liés aux caractéristiques de l'albumen Campbell et al. (1999) ont identifié des QTL de la dureté (exprimées par la méthode NIRS) sur les chromosomes 2A, 2D, 6B en plus du Hardness locus. Deux autres QTL mineurs ont été trouvés (en plus du Hardness locus) sur les chromosomes 1A et 6D par (Perretant et al. 2000) à partir d'une population de 187 lignées double haploïde issus de variétés cultivées. 10 QTLs exprimant 54% de variabilité de la dureté (mesuré par la méthode NIRS) ont été identifiés sur les chromosomes 2A, 3B, 4A, 4D, 5A, 6B, 7A, 7B, 7D par Zanetti et al. (2001). L'étude de (Galande et al. 2001) visant à identifier les marqueurs PCR a permis d'identifier 7 marqueurs de la dureté (NIRS) exprimant

20,6% de la variabilité. Enfin des QTL de la dureté (NIRS) sur les chromosomes 2B, 6B, 7A ont été mentionnés par (Turner et al. 2004), tandis que d'autres sur les chromosomes 1A, 1B, 1A/D, 2A, 2B, 2D, 3A/B, 4B, 5B et 6B ont été identifiés par Breseghello et al. (2005) et 4 sur les chromosomes 2A, 2D, 3A et 6D (Weightman et al. 2008).

## II-1-2 Influence de la génétique sur la vitrosité du grain

La vitrosité est également génétiquement contrôlée. Plusieurs études ont mentionné l'effet du génotype sur la vitrosité (Aucamp et al. 2006; Kindred et al. 2008). Selon (Nelson et al. 1995) le QTL majeur de la vitrosité serait lié au Hardness locus de la dureté, localisé sur le bras court du chromosome 5D. Mais (Weightman et al. 2008) ont identifié d'autres QTLs mineurs associés à la vitrosité sur les chromosomes 1B, 4D et 5D tandis qu'un autre QTL mineur associé à la vitrosité a été identifié sur le chromosome 2D.

## II-2 Influence de l'environnement sur la texture de l'albumen

### II-2-1 Influence de l'environnement sur la dureté

Malgré les origines génétiques de la dureté du grain, les conditions environnementales constituent une importante source de variation de cette dernière. L'effet du lieu de culture sur la mesure de dureté SKCS (Hardness Index) a été mentionné par Gazza et al (2008) dans une étude basée sur 13 cultivars (dont 7 soft, 4 hard Pina-D1a/Pinb-D1b et 2 Pinb-D1d) cultivés sur 6 différentes localités. L'étude de Aucamp et al (2006) a également mentionné l'effet du lieu de culture sur la dureté SKCS à partir d'une population de 13 blés hard et des variétés hybrides. Weightman et al (2008) ont montré qu'une faible disponibilité de l'eau pendant la culture de la plante pourrait entraîner une augmentation du Hardness Index. Panozzo et Eagles (1998) ont montré que les fortes températures (supérieures à 30°C) pendant les 14 premiers jours suivant l'anthèse entraînent une augmentation de la dureté du grain chez les hard comme chez les soft. De même, de faibles températures, inférieure à 3°C, pourraient augmenter la dureté de l'albumen (Preston et al. 1991). Dans l'étude de Hruskova et Svec (2009) basée sur 281 variétés commerciales de blé cultivées sur 4 lieux dans la période 2004-2006, les différences de dureté NIRS observées entre les lieux de culture n'étaient pas significatives, alors que les différences entre les années 2004 et 2006 étaient significatives.

## II-2-2 Influence de l'environnement sur la vitrosité

La vitrosité est largement contrôlée par les conditions environnementales (Aucamp et al. 2006), notamment l'ensoleillement et la température durant la phase de remplissage du grain, ainsi que la rapidité de séchage à maturité (Parish and Halse 1968). L'apport et la disponibilité de l'azote dans le sol ont une grande influence sur la présence de grains vitreux, et l'augmentation de la teneur en protéines semble favoriser la vitrosité. Mais Weightman et al (2008) ont formulé l'hypothèse selon laquelle la vitrosité serait plutôt fortement liée à la qualité des protéines. Selon d'autres études la vitrosité serait liée à un rapport gliadine / gluténines plus élevé, comme chez le blé dur (Dexter et al. 1989; Samson et al. 2005).

## III Relation entre composition biochimique et texture de l'albumen

### III-1 Relation entre puroindoline-a, puroindoline-b et la texture de l'albumen

Le lien entre les formes sauvages et mutées des Pina et Pinb d'une part et la texture du grain d'autre part a été établi par plusieurs auteurs (Tableau 1). En effet la texture soft résulte de la présence des formes alléliques sauvages des Pin-a et Pin-b qui sont les allèles Pina-D1a, Pinb-D1a respectivement. Une absence ou une mutation de l'un ou l'autre de ces allèles conduit aux textures medium hard ou hard (Chantret et al. 2005; Giroux and Morris 1997; Giroux and Morris 1998; Lillemo and Morris 2000; Martin et al. 2001)

Le mécanisme par lequel les puroindolines agissent sur la texture n'est pas encore clairement établi. La similarité de la structure primaire des puroindolines et de celle des LTPs a permis d'évoquer la capacité de liaison entre les puroindolines et les lipides. En effet, à l'exception des DRT, 4 des 5 ponts dissulfures des puroindolines ont des positions identiques à celles des LTPs. Il a été proposé que les puroindolines interagissent avec les lipides à travers leur DRT qui forme des boucles d'ancrage entre les hélices- $\alpha$  des membranes (Biswas and Marion 2006). Aussi le changement d'acide aminé suite à la mutation pourrait affecter l'intensité de l'interaction entre les puroindolines et les granules d'amidon (Corona et al. 2000), probablement par une modification des propriétés du domaine riche en tryptophane contenant des boucles de liaison des lipides (Chen et al. 2005). Feiz et al. (2009) ont montré par des mutations réalisées in planta l'importance de ce domaine dans l'expression de la dureté des grains.

Tableau 1: Phénotypes associés aux différentes mutations identifiées chez les puroindolines a et b

Forme allélique du gène Pin-a	Forme allélique du gène Pin-b	Mutation	Phénotype	Références
Pina-D1a	Pinb-D1a	aucune	Soft forme sauvage	(Giroux and Morris 1997)
Pina-D1b	Pinb-D1a	Délétion de Pina	Extra Hard, Absence de PIN-A	(Giroux and Morris 1998)
Pina-D1a	Pinb-D1b	Gly-46-Ser	Hard	(Giroux and Morris 1997)
Pina-D1a	Pinb-D1c	Leu-60-Pro	Hard	(Lillemo and Morris 2000)
Pina-D1a	Pinb-D1d	Trp-44-Arg	Hard	(Lillemo and Morris 2000)
Pina-D1a	Pinb-D1e	Trp-39- codon stop	Hard, absence de PIN-B	(Martin et al. 2001)
Pina-D1a	Pinb-D1f	Trp-44- codon stop	Hard, absence de PIN-B	(Martin et al. 2001)
Pina-D1a	Pinb-D1g	Cys-56- codon stop	Hard, absence de PIN-B	(Martin et al. 2001)
Pina-D1a	Pinb-D1l	Lys-45-Glu	Hard	(Pan et al. 2004)
Pina-D1a	Pinb-D1p	Lys-42-Asp	Hard	(Ke and Xiao-Ping 2005)
Pina-D1a	Pinb-D1q	Trp-44-Leu	Hard	(Chen et al. 2005)

## Développement des lignés quasi-isogéniques pour la dureté

Le rôle des allèles de puroindoline dans l'expression de la texture hard ou soft des blés a conduit au développement de matériels génétiques particulièrement adaptés à l'étude précise des effets de ces allèles sur la dureté et sur le comportement en mouture. Ainsi, plusieurs lignées sœurs portant un patrimoine génétique quasi-identique, mais différentes par les allèles de puroindolines ont été développés. Ces lignées sont dites quasi-isogénique pour la dureté, et présentent une hétérozygotie résiduelle qui exprime le pourcentage de différence génétique entre ces lignées. Les études basées sur les lignées quasi isogéniques ont permis de confirmer les liens entre les différents types d'allèles de puroindolines, et les types de duretés correspondantes.

## III-2 Rôle des lipides dans la texture de l'albumen

### III-2-1 Interaction entre puroindolines et lipides

Plusieurs observations ont permis de suggérer l'implication des puroindolines dans l'interaction entre les lipides et les composants de l'albumen amylicé. Morrison (1984 ; 1989) ont montré que le locus *Ha* est fortement lié au gène *Fpl-1* qui contrôle la quantité de lipides polaires libre. Le lien entre ces deux locus suggère une liaison possible entre le métabolisme lipidique et la dureté. Les puroindolines présentent des homologies de séquence avec les protéines de transfert des lipides non spécifiques (nsLTP) à l'exception du DRT (Le

Bihan et Al, 1996 ; Le Guernevé et Al, 1998 ; Doulliez et Al, 2000). Ces protéines permettent de faciliter le transport intermembranaire sans spécificité pour un type de lipide. Contrairement aux puroindolines, ce sont des protéiques ubiquitaires dans le monde végétal. Les homologies de séquence entre les puroindolines et les nsLTP suggèrent une ressemblance structurale et potentiellement, fonctionnelle. La région hydrophobe des puroindolines aurait une forte affinité avec des lipides et pourrait lier les puroindolines avec les résidus des membranes d'amyloplastes présents à la surface des granules d'amidon. Cette hypothèse est cohérente avec les travaux de Greenblatt et al (1995) qui ont montré une analogie entre la quantité de puroindoline et celle des lipides polaires associées aux granules d'amidon purifiés. Selon Kooijman et Al (1997), les puroindolines interagiraient avec les lipides via le DRT où les hélices  $\alpha$  forment une boucle. En effet les puroindolines sont capables d'interagir avec la lysophosphatidylcholine (Wilde et Al, 1993), et la puroindoline-a peut également interagir avec les phospholipides *in vitro* (Le Guernevé et al, 1998). De plus la nature des interactions entre protéines et lipides varie en fonction de la nature des structures des lipides impliquées et du ratio lipides/protéines (Le Guernevé et Al, 1998). La puroindoline-a interagit faiblement avec les phospholipides de charge neutre et fortement avec les lipides chargés négativement. Finnie et al (2010) ont mis en évidence des variations de composition des lipides polaires entre variétés quasi-isogéniques possédant différents allèles des gènes codant les puroindolines.

### III-2-2 Relation entre lipides et texture

Plusieurs travaux indiquent que les lipides jouent un rôle dans le phénomène de dureté bien que la relation entre la durée et les lipides n'ait pas été réellement reconnue ou identifiée.

L'observation de l'albumen amylicé avait permis de mettre en évidence des différences au niveau des résidus d'amyloplastes qui sont beaucoup moins dégradés chez les blés soft ce qui pourrait induire une moindre adhésion amidon protéines et de moindres teneurs en lipides polaires libres (Simmonds, 1972). De plus, l'interaction entre les granules d'amidon et les membranes d'amyloplastes était différente entre les blés hard et les blés soft (Barlow et al, 1973). D'après Greenblatt et al (1995) les granules d'amidon isolés des blés soft contiendraient à la fois plus de puroindoline et de lipides polaires que ceux des blés hard. Les travaux de Finnie et al, (2010) réalisés à partir de lignées quasi-isogéniques pour la dureté ont confirmé que la surface des granules d'amidon isolés des blés soft était plus riche en lipides polaires que ceux isolés des blés hard. Les lipides polaires abondant à la surface des granules d'amidon étaient les DGDG (digalactosyldiglycerol), les MGDG (monogalactosyldiglycerol)

et les PC (phosphatidylcholine) (Finnie et al. 2010). Konopka et al (2005) ont établi une corrélation positive ( $r^2 = 0,82$  entre la dureté des blés et la quantité des glycolipides de l'albumen amylicé et une corrélation négative ( $r^2 = 0,83$ ) avec la quantité de lipides apolaires à la surface des granules d'amidon.

Panozzo et al (1993) ont montré que les compositions lipidiques des farines varient en fonction de la dureté des blés. Cependant une partie des lipides dans les farines peuvent provenir des tissus périphériques et il est difficile de comparer des produits de transformation pour conclure sur une liaison potentielle entre la dureté et les lipides.

D'autres études se sont intéressées aux lipides de la surface des granules d'amidon. D'après ces études, les blés soft pourraient contenir plus de lipides polaires (et notamment les lysophospholipides) associés à la surface des granules d'amidon (Matsoukas et Morrisson (1991) ; Greenblatt et al (1995)). De plus Darlington et al (2000) ont montré que les blés soft contiennent également plus de puroindolines à la surface des granules isolés par voie sèche. Il semble donc exister une forte corrélation entre quantité de lipides polaires et puroindolines à la surface des granules d'amidon.

### III-3 Rôle des arabinoxylanes

Hormis l'effet du locus Ha qui permet de distinguer les blés hard des soft, il existe une variabilité de la dureté au sein des soft et des hard. Bettge et Morris (2000) ont examiné le rôle des arabinoxylane (pariétaux, solubles et totales) dans la dureté à partir de 13 blés hard et 13 blés soft. Chez les hard l'effet des arabinoxylanes sur la dureté n'était pas significatif. Mais chez les soft les pentosanes et les protéines contribuaient à expliquer 53% de la variabilité de la dureté SKCS et 76% de la variabilité de la dureté NIRS. Les effets des pentosanes membranaires étaient les plus déterminants. Les travaux de Gamalath et al (2008) sur l'orge ont montré des corrélations très hautement significatives dureté SKCS -  $\beta$ -glucane ( $r = 0,873$ ) et dureté SKCS – arabinoxylanes ( $r = 0,601$ ).

## IV Corrélation entre les caractéristiques des grains

Les corrélations entre les caractéristiques des grains ont été mentionnées dans plusieurs travaux. Ohm et al (1998) ont mentionné de fortes corrélations entre dureté NIRS et dureté SKCS ( $r = 0,81$  ;  $P < 0,01$ ) à partir de 12 cultivars de blés hard cultivés dans 6 localités différentes. Cette même étude a mentionné des corrélations dureté SKCS – PS ( $r = 0,70$  ;  $P < 0,01$ ) et dureté SKCS – Densité des grains ( $r = 0,74$  ;  $P < 0,01$ ). Par contre la corrélation



Dureté SKCS – Teneur en protéines n’était pas significative, contrairement au cas du blé dur pour lequel l’accroissement de la vitrosité serait corrélé à l’accroissement de la teneur en protéines (Samson et al. 2005).

Morris et al (1999) ont observé une forte corrélation ( $r=0,87$  ;  $P<0,01$ ) entre dureté NIRS et dureté SKCS à partir de l’étude de 83 descendants d’un croisement hard/soft. Mais les travaux de Martine et al, (2001) ont mentionné une corrélation plus faible entre duretés NIRS et SKCS ( $r=0,53$ ,  $P<0,01$ ).

Morris et Massa (2003) ont comparé les différentes méthodes de mesure de la texture (à partir de 5 blés soft et 5 blés hard) et ont observé que les corrélations entre la dureté NIRS, la dureté SKCS et le PSI étaient plus faibles lorsque les échantillons analysés proviennent d’une même classe de dureté (hard ou soft), et plus fortes lorsque les échantillons proviennent des deux classes de dureté.

Des fortes corrélations dureté SKCS - Vitrosité ont été mentionnées par plusieurs travaux chez le blé tendre ((Orucevic et al. 2008),  $r=0,7$ ) et chez le blé dur par ((Sissons et al. 2000),  $r=0,99$ ). Chez l’orge les corrélations vitrosité – SCKS ont été mentionnées (Gamlath et al. 2008; Psota et al. 2008). Gazza et al (2008) ont mentionné des corrélations dureté SKCS – PMG ( $r=-0,47$  pour les soft et  $-0,64$  pour les hard ;  $P<0,01$ ), et une corrélation dureté SKCS – Protéines chez les soft ( $r=0,36$ ,  $P<0,05$ ) (non significative pour les hard). Les corrélations Protéines - PS n’étaient pas significatives.

## V Influence de la génétique et de l’environnement sur les caractéristiques des grains et sur la composition de l’albumen

### V-1 1 Influence de la génétique et de l’environnement sur le PMG et le PS

#### V-1-1-1 Influence de la génétique sur le PMG et le PS

Le PMG est une caractéristique fortement contrôlée par des facteurs génétiques. Plusieurs études ont montré que le génotype contribue fortement à la variation du PMG (Aucamp et al. 2006; Otteson et al. 2008). Plusieurs QTL liés à l’expression du PMG ont été identifiés. Campbell et al (1999) ont identifié des QTL sur les chromosomes 1A, 1B, 3B, et 7A permettant d’expliquer 44% de la variation du PMG. 8 QTLs exprimant 54% de la variabilité du PMG ont été localisés sur les chromosomes 1B, 2B, 2D, 3B, 5A, 5B, 7B (Zanetti et al. 2001). L’étude de Grosss et al (2003), a également permis d’identifier 3 QTLs sur les chromosomes 2B, 5B et 7A. Enfin, 3 marqueurs PCR, exprimant 12,1% de la variabilité du PMG, ont été identifiés par Galande et al (2001).

Tout comme le PMG, le PS est également un facteur génétiquement contrôlé. Kleijer et al (2007) a montré un effet significatif du génotype sur le PS. Un QTL a été identifié par Campbell et al (1999) sur le chromosome 2B exprime 31% de la variabilité ; et 3 marqueurs exprimant 13,5% de la variabilité ont été identifiés par Galande et al (2001)

## V-1-2 Influence de l'environnement sur le PMG et le PS

Bien que le PMG et le PS soient des caractéristiques génétiquement contrôlées, les conditions environnementales affectent considérablement leurs expressions. A partir d'une étude basée sur 20 variétés de blé tendre et blé dur, cultivées sur 7 différentes localités pendant les années 2005-2006, Shantha et al (2007) ont observé un effet significatif des conditions environnementales sur le PMG et le PS. L'étude de Aucamp et al (2006) a également montré l'effet de l'environnement sur le PMG et le PS.

Plus précisément, pour le PMG, Castro et al (2007) ont observé que le stress thermique pendant la phase de remplissage du grain (résultant de températures au-dessus de 35°C) serait à l'origine d'une baisse du PMG. De même, Bhullar et Jenner (1985) ont montré que les fortes températures pendant la période de remplissage du grain entraînent une réduction du poids des grains. D'autre part, l'étude de Preston et al (1991) a montré que les faibles températures (inférieures à 3°C) lors de la maturité précoce des grains sont également à l'origine d'une baisse de PMG.

De même, les études de Kleijer et al (2007) et de Nel et al (1998) ont montré des effets significatifs des conditions environnementales (années et lieu de culture) sur la variation du PS.

## V-2 Influence de la génétique et de l'environnement sur la composition biochimique de l'albumen du grain

### IV-2-1 Influence de la génétique et de l'environnement sur la composition en amidon du grain

La synthèse de l'amylose et de l'amylopectine est génétiquement contrôlée au travers des enzymes SSS (Soluble Starch synthase enzyme) et GBSS (Granule-Bound Starch Synthase GBSS) (Jiang et al. 2003; Zhang et al. 2010). Les gènes *Wx-7A*, *Wx-4A* et *Wx-7D* codant pour les enzymes GBSS sont localisés respectivement sur les chromosomes 7A, 4A et 7D (Murai et al. 1999). Au total, 5 types d'enzymes sont synthétisées pour la régulation de la synthèse de l'amylose et de l'amylopectine : SS I, SS II, SS III, SSIV, GBSS I (Zhang et al.

2010). L'enzyme GBSS I est responsable de la formation de l'amylose (Smith et al. 1997). L'enzyme SS I serait responsable de la formation des chaînes plus courtes d'amylopectine, tandis que les enzymes SS II et SS III seraient responsables de l'extension des chaînes d'amylopectine (Clarke and Rahman 2005; Umemoto and Terashima 2002; Xia et al. 2008).

Plusieurs études ont montré que les proportions des types de granules d'amidon varient en fonction de facteurs génétiques et environnementaux. Une étude de Raeker et al (1998), réalisée sur 12 cultivars, a montré qu'il y a des différences significatives de distributions volumiques entre les cultivars. Des études faites sur des blés de textures différentes ont montré que les blés hard sont plus riches en granules de petites tailles que les soft (Bechtel et al. 1993; Evers and Lindley 1977; Gaines et al. 2000; Li et al. 2008; Wooding et al. 2000; Zayas et al. 1994), pourtant d'autres auteurs soulignent que ces différences entre blés de type hard et soft ne seraient pas significatives (Bechtel et al. 1993; Glenn et al. 1992).

Les principales conditions environnementales qui influent sur la proportion des types de granules sont la température, l'intensité de la lumière après l'anthèse, et la quantité d'eau disponible. Li et al (2010) ont montré qu'une faible intensité de lumière après l'anthèse conduit à la baisse du pourcentage volumique des granules de petites tailles au profit des granules A. Cette tendance est également observée lorsqu'une faible quantité de lumière est appliquée à différents stades du remplissage du grain. Dai et al (2008) ont étudié la distribution des granules d'amidon de deux cultivars sous différentes conditions d'irrigation et de pluviométrie. Les résultats ont montré que le traitement pluviométrique a permis d'augmenter le pourcentage volumique et de surface des granules de petites tailles et à baisser ceux des granules de grande taille. Le déficit d'eau dans le sol a aussi baissé la teneur en amylose et en amidon dans les grains tout en augmentant la teneur en protéines. Dans les 2 cultivars la teneur en amylose et en amidon dans les grains était significativement corrélée négativement au pourcentage volumique de granules de petites tailles tandis que la teneur en protéines dans le grain était significativement corrélée positivement avec le pourcentage volumique des petits granules. Cela signifie que les petits granules ont de faibles teneurs en amylose et en amidon et ont des fortes teneurs en protéines tandis que les gros granules ont des fortes teneurs en amylose et amidon.

Panozzo et Eagles (1998) et Jenner (1994) ont montré que les fortes températures (supérieures à 30°C) pendant les 14 premiers jours après l'anthèse entraînent une augmentation des proportions des granules de type A, et une augmentation du pourcentage d'amylose. De même, Bhullar et Jenner (1985) ont montré que les fortes températures pendant la période de

remplissage du grain entraînent une réduction des proportions des granules de type B, et de la quantité totale d'amidon dans les grains.

## V-2-2 Influence de la génétique et de l'environnement sur les protéines de l'albumen du grain

Plusieurs études ont montré que la teneur en protéines est contrôlée par des facteurs génétiques (Otteson et al. 2008). Les QTLs responsables de la teneur en protéines ont été largement étudiés. Joppa et al (1997) ont identifié un QTL sur le chromosome 6B exprimant 66% de la variation de la teneur en protéines. L'étude de Groos et al (2003) basée sur une population de 194 lignées recombinantes F7 issus d'un croisement entre 2 variétés de blé et cultivés dans 6 localités en France a permis d'identifier des QTL stables sur les chromosomes 2A, 3A, 4D, 7D, exprimant chacun 10% de la variation de la teneur en protéines. D'autres QTL de la teneur en protéines ont été identifiés sur les chromosomes 1B, 2D, 3A, 4B, 5B, 6B par Breseghello (2005) à partir d'une étude basée sur une population de 101 lignées issues d'un croisement hard/soft. D'autres encore ont été identifiés sur les chromosomes 1B et 6A par Perretant et al (2000), sur les chromosomes 2B, 6B, 7A par Turner et al (2004). L'étude Zanetti et al (2001) a permis d'identifier 9 QTLs sur les chromosomes 1B, 3B, 4A, 5A, 5B, 6B, 7A, 7B, 7D, exprimant 51% de la variabilité de la teneur en protéines. Enfin, 11 marqueurs PCR exprimant 18,8% de la variabilité de la teneur en protéines ont été identifiés par Galande et al (2001).

Mais les conditions environnementales affectent considérablement l'expression de la teneur en protéines des grains. Ainsi, plusieurs études ont montré que la teneur en protéines et la composition des protéines varient en fonction des facteurs environnementaux (lieu de culture, niveau d'apport azoté...) (Igrejas et al. 2001; Triboi et al. 2000; Zhang et al. 2005) qui se traduisent notamment par des températures extrêmes (fortes, supérieures à 30 à 35°C, ou faibles, inférieures à 3°C) et/ou par la faible disponibilité de l'eau.

Le stress thermique et le stress hydrique pendant la culture peuvent influencer significativement la teneur en protéines des grains (Triboi et al. 2006). Mais l'effet du stress thermique sur la teneur en protéines serait plus fort que celui du stress hydrique (Campbell and Davidson 1979). L'augmentation de la température se traduit par une rapide maturité du grain et par une forte concentration en protéines du grain mature (Campbell and Davidson 1979; Sofield et al. 1977). En particulier, des études ont montré que l'augmentation de la température entraîne une augmentation du ratio gliadine sur gluténines (Blumenthal et al. 1993; Ciaffi et al. 1996;

Johansson et al. 2005; Panozzo and Eagles 2000; Zhu and Khan 2001). L'étude de Campbell et Davidson (1979) a montré que l'effet du stress hydrique sur la teneur en protéines est similaire à celui de la température. Une augmentation du stress hydrique entraîne une baisse du rendement, et sur la base de la corrélation négative entre rendement et protéines (Campbell and Davidson 1979; Daniel and Triboi 2002; Terman 1979), il y a une augmentation de la concentration en protéines. Ainsi, une augmentation du stress hydrique entraîne généralement une forte teneur en protéines des grains (Entz and Fowler 1988).

L'augmentation du taux d'azote dans le sol entraîne également une augmentation de la teneur en protéines (Otteson et al. 2008).

## VI La mouture et la répartition des différents tissus

La mouture du blé tendre constitue une étape très importante lors de sa transformation en produit alimentaire ou non alimentaire. Elle permet de séparer l'albumen amylicé du grain de ses tissus périphériques puis de le réduire en particules de petites tailles (<200µm). La forme et la structure particulière du grain, notamment la présence du sillon, font que la première transformation nécessite l'ouverture du grain suivie de l'extraction progressive de l'albumen amylicé. Deux phases de préparation des grains, le nettoyage et le conditionnement des grains, précèdent la mouture proprement dite.

### VI-1 Le nettoyage et le conditionnement

La première étape consiste à éliminer les impuretés telles que les cailloux, les grains étrangers, les métaux, les pailles, mais également les grains de blé de mauvaise qualité (échaudés ou fusariés par exemple). La diversité des impuretés nécessite des équipements utilisant toutes les différences exploitables (taille, forme, densité...) entre les grains et les particules indésirables (Hoseney 1986). Cette première étape permet d'obtenir un lot de grains sains sans impureté.

La deuxième étape consiste à conditionner les grains. Le conditionnement est une étape d'humidification des grains qui permet d'amplifier les différences de texture entre les parties du grain afin de pouvoir mieux les séparer. En effet, le conditionnement crée un gradient de teneur en eau dans le grain, le centre étant plus sec et les parties périphériques plus hydratées. Ainsi les enveloppes sont plus assouplies et plus tenaces alors que l'albumen amylicé devient plus friable. Ces différences de propriétés mécaniques des tissus permettent d'optimiser leur séparation. Le conditionnement consiste à mouiller les grains en ajoutant une quantité d'eau

permettant d'atteindre une teneur en eau comprise entre 15% et 17%. Cette étape est suivie d'une agitation pour mélanger les grains et l'eau. L'ensemble repose ensuite pour une durée de 12 à 48 heures selon les lots.

## VI-2 La mouture du grain

La mouture correspond à un fractionnement des grains mettant en œuvre deux types d'opérations unitaires qui sont toujours combinées : des opérations de fragmentation et de séparation. La fragmentation correspond à la dissociation des différentes parties et à la réduction des semoules en farine. Pour cela on utilise deux cylindres (cannelés ou lisses) tournant en sens inverse avec des vitesses différentielles et un écartement réglable. La séparation permet de classer et de séparer les tissus périphériques de l'albumen amylicé, essentiellement sur la base de leur granulométrie. Pour cela, on utilise des tamis superposés regroupés dans un plansichter. Le plansichter assure l'écoulement entre les tamis par un mouvement régulier de rotation. Une autre opération de séparation, le sassage, plus spécifique au blé dur peut néanmoins être utilisée : elle a une action de purification des semoules par un traitement aérodynamique des produits de fragmentation.

La mouture du blé tendre se déroule en trois grandes étapes : le broyage, le claquage et le convertissage. Chacune d'elles comprend plusieurs passages. L'enchaînement des différents passages de mouture se schématise par un diagramme de mouture où sont précisés les types de cylindre, les tamis et la destination des produits.

Le broyage est la première étape de la mouture. Il consiste à ouvrir le grain et à séparer les tissus périphériques (enveloppe, germe, de l'albumen. Le broyage se fait en général en 4 ou 5 passages sur des cylindres cannelés. Dans cette configuration le cylindre le plus lent peut être représenté comme tenant le grain alors que le cylindre rapide l'écrase. Ainsi les grains et les produits intermédiaires subissent à la fois un cisaillement favorable à la réduction albumen et/ou des tissus périphériques et une compression qui contribue à la réduction granulométrique des particules. Le nombre de cannelures augmente entre le premier et le dernier passage de broyage. Chaque passage sur cylindre est suivi d'un tamisage sur plusieurs tamis (jusqu'à 12) d'ouverture décroissante. Ce tamisage permet de trier les produits afin de les envoyer sur les passages appropriés. Par exemple, les gros sons contenant beaucoup d'albumen résiduel sont envoyés sur le broyeur suivant alors que les grosses particules d'albumen sont conduites vers l'étape de claquage. Outre les produits intermédiaires, le broyage permet d'obtenir la farine de broyage, les gros sons et les fins sons.

Les produits intermédiaires obtenus au broyage sont envoyés vers le claqueur ou le convertisseur en fonction de leur taille, les produits les plus gros étant envoyés au claquage. Le claquage est généralement réalisé sur cylindre lisses et consiste à réduire les grosses semoules et à éliminer les restes de parties périphériques (germe et tissus périphériques). Les produits obtenus sont les farines et les remoulages bis. Il peut comprendre jusqu'à 6 passages. Le convertissage ou réduction a pour but de diminuer la taille des particules issues du broyage et du claquage et d'éliminer les dernières fractions de sons. Il génère de la farine et des remoulages blancs et bis.

La quantité totale de farine obtenue à l'issue de la mouture correspond au rendement brut et exprimé en fonction de la quantité de grain initialement mis en mouture après conditionnement. Ce rendement est corrigé des pertes de produit lors du procédé.

### VI-3 Conséquence de la variabilité de la texture sur le comportement en mouture

La variabilité du comportement en mouture est très largement liée à la texture du grain Campbell et al (2001) ont utilisé des descendants d'un croisement entre un blé soft et un blé hard tous 2 de bonnes qualités pour analyser les traits de qualité (comportement en mouture, protéines, pétrissage, hydratation, panification) et identifier les QTLs liés à ces traits de qualité. Cette étude a été réalisée à l'aide de 370 marqueurs moléculaires et a permis de montrer que le Ha locus localisé sur le chromosome 5D est le QTL majeur du comportement en mouture.

Plusieurs autres travaux ont montré que la dureté du grain de blé influence considérablement son comportement en mouture et les caractéristiques des produits obtenus après mouture. La plupart de ces études ont consisté à comparer les effets des textures soft et hard sur le comportement en mouture. Ainsi, Hogg et al (2005) ont montré à partir de l'étude d'une population de 17 blés hard et soft caractérisés par les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (soft) et Pina-D1a/Pinb-D1b (hard) que les valeurs obtenues pour la dureté SKCS étaient fortement corrélées positivement au rendement en farine totale ( $r = 0,82$ ) mais négativement corrélées aux farines de broyage ( $r = -0,71$ ). Ainsi les blés soft possédant l'allèle Pina-D1a/Pinb-D1a ont présenté de faibles valeurs de SKCS (15 - 40) et se sont distingués par les plus fortes productions de farine de broyage mais les plus faibles rendements en farine totale par rapport aux hard qui possédaient l'allèle Pina-D1a/Pinb-D1b (valeur de SKCS comprise entre 80 et 90). L'étude de Chen et al (2007), réalisée à partir de 75 cultivars de blé tendre, a permis de

montrer que l'allèle Pinb-D1b présente des rendements en farine plus élevés et un faible taux de cendre par rapport à l'allèle Pina-D1b. Ce résultat est conforme à celui de l'étude de Martin et al (2001) qui a également montré une corrélation négative entre la dureté du grain et les rendements en farine de broyage et farine totale, et une corrélation négative entre la dureté et le taux de cendre de la farine. Dongyun et al (2009) ont comparé les effets des combinaisons d'allèles Pina-D1b/Pinb-D1a, Pina-D1a/Pinb-D1b, Pina-D1a/Pinb-D1c, Pina-D1a/Pinb-D1d, Pina-D1a/Pinb-D1e, Pina-D1a/Pinb-D1f, Pina-D1a/Pinb-D1g à partir de 7 lignées quasi-isogoniques pour la dureté. La combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d présentait les plus faibles valeurs de dureté, un fort rendement en farine de broyage, un faible rendement en farine de réduction, plus faibles taux d'amidons endommagés dans les farines par rapport aux autres combinaisons. Il a donc été conclu que la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d avait la meilleure qualité meunière par rapport aux autres.

L'étude de Park et al (2009) réalisée sur 22 cultivars de blé coréens a permis de comparer les effets des combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1a, Pina-D1a/Pinb-D1b, Pina-D1b/Pinb-D1a. Les blés possédant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ont présenté de faibles valeurs de Hardness index, de faibles rendement en farine totale, de forts rendement en farine de broyage, de faible taux de cendre et d'amidons endommagés par rapport aux autres. Les blés possédant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ont présenté des taux de cendres et d'amidons endommagés plus forts que ceux possédant la combinaison Pina-D1b/Pina-D1a.

De même, une étude de Greffeuille et al (2006b) réalisée à partir de lignées quasi-isogéniques caractérisées par les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (soft) et Pina-D1a/Pinb-D1b(hard) a permis de montrer l'effet de la dureté et de la vitrosité sur les propriétés mécaniques des albumen et sur le comportement en mouture. Les blés hard se sont distingués par leur forte énergie de broyage (*index K' mesuré au Broyeur B1*) et par une production de grosses particules tandis que les blés soft étaient plus facilement broyés au B1 et produisaient plus de farine à cette étape. Quant à la vitrosité, elle influait positivement sur la production de farine chez les soft mais présentait un effet contraire chez les hard. Cela a permis de formuler l'hypothèse selon laquelle la dureté influencerait particulièrement sur l'adhésion entre la matrice protéique et les granules d'amidon alors que la vitrosité serait liée à la microstructure de l'albumen.

Wanjugi et al (2007) ont étudié séparément et en combinaison le rôle des puroindoline-a et puroindoline-b sur le comportement en mouture et l'aptitude à la panification à partir de lignées issues de croisement entre des blés caractérisés par l'absence de puroindoline-a ou de puroindoline-b avec des blés possédant les allèles Pina-D1a et Pinb-D1a. Cette étude a montré



que les ajouts de l'allèle Pina-D1a à la combinaison Pina-D1b/Pinb-D1a ou de l'allèle Pinb-D1a à la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1e conduisent à une texture soft des grains, un faible rendement en farine totale, un faible taux de cendre et une forte production de petites particules de farine. Ces études montrent que les blés hard produisent de faibles quantités de farine aux étapes de broyage mais consomment plus d'énergie lors de ces étapes par rapport aux softs. Cependant ils produisent des plus forts rendements en farines totales, et des taux de cendres plus élevés dans ces farines. Une des particularités des blés hard est le fort taux d'endommagement des granules d'amidons produits lors du fractionnement. Cela résulte de la très forte adhésion entre granule d'amidon et matrice protéique, et conduit à la production de grosses particules de formes irrégulières composées majoritairement de cellule entière d'albumen lors de premières étapes du fractionnement (Pomeranz and Williams 1990).

D'autres études se sont intéressées à la comparaison des effets de différents allèles conférant la texture medium hard ou hard sur le comportement en mouture. Ainsi, dans une étude permettant de comparer les qualités technologiques des blés hard caractérisés par les allèles Pina-D1b et Pinb-D1b Chen et al (2007) ont montré que l'allèle Pinb-D1b produit un rendement en farine plus élevé et un faible taux de cendre par rapport à l'allèle Pina-D1b. De même, Martin et al (2001) ont étudié une population des 139 blés descendant des mêmes parents et caractérisée par les mutations Pina-D1b et Pinb-D1b. Les blés possédant l'allèle Pina-D1b avaient des valeurs de dureté NIRS et de SKCS significativement supérieures à celles des Pinb-D1b. Les valeurs de dureté NIRS et de SKCS étaient significativement corrélées positivement au taux de cendre dans la farine ( $r = 0,45$  ;  $r = 0,30$  respectivement.) ; mais négativement corrélées à la production de farine de broyage ( $r = -0,55$  ;  $r = -0,77$  respectivement.) et au rendement en farine ( $r = -0,24$  ;  $r = -0,54$  respectivement).

#### VI-4 Modélisation du mode de rupture de l'albumen en fonction de sa composition et structure

Le lien entre la composition biochimique de l'albumen et sa texture a fait l'objet d'une simulation numérique dans l'étude de Topin et al (2007). Ce modèle a permis de simuler les interactions entre la matrice protéique, les granules d'amidon et la porosité de l'albumen (Figure 5), et leur comportement lorsque l'albumen est soumis à des contraintes.

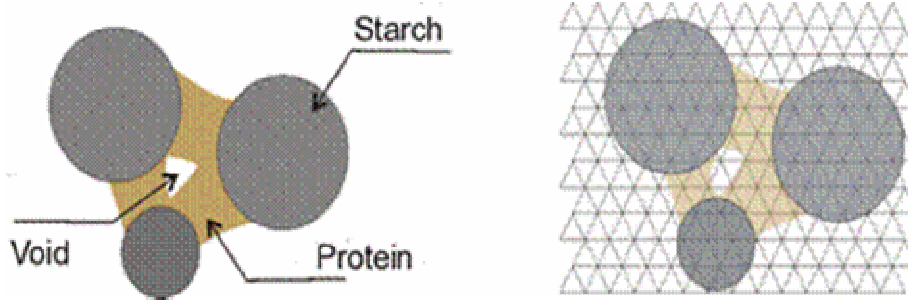


Figure 5: Simulation de la composition et de la structure de l'albumen

Chacun de ces constituants ainsi que leurs interfaces qui représentent l'adhésion, a été défini comme respectant la loi d'élasticité linéaire de Hooke, ce qui a permis d'affecter une constante de déformation  $k$  et une force de rupture  $F$  aux liens intra et inter-constituants (Figure 6).

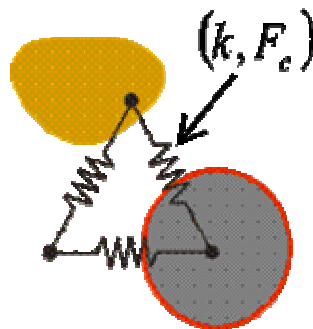


Figure 6: Caractérisation mécanique des composés de l'albumen

Ces paramètres ont ensuite permis d'une part de proposer des modes de rupture de l'albumen lorsqu'il est soumis à des forces de traction ou de compression, et d'autre part de simuler des niveaux d'endommagement des granules d'amidon en fonction de la teneur en protéines et de la force d'adhésion entre les granules d'amidon et la matrice protéique.

Plus particulièrement, 4 modes de rupture de l'albumen ont été présentés en fonction de la teneur en protéines et de la force d'adhésion entre la matrice protéique et les granules d'amidon (Figure 7) :

- Pour des faibles valeurs d'adhésion et de teneur en protéines, la rupture de l'albumen se ferait à travers la matrice protéique.
- Pour des valeurs élevées de teneur en protéines et d'adhésion, la rupture traverserait à la fois les granules d'amidon et la matrice protéique.
- Pour des faibles valeurs de teneur en protéines et de fortes valeurs d'adhésion, la rupture traverserait la matrice protéique et passerait à la surface des granules d'amidon
- Pour des fortes valeurs de teneur en protéines et faibles valeurs d'adhésion, la rupture se ferait à travers la matrice protéique.

Ainsi ces différents modes de rupture conduisent à des taux d'endommagement des granules d'amidon différents.

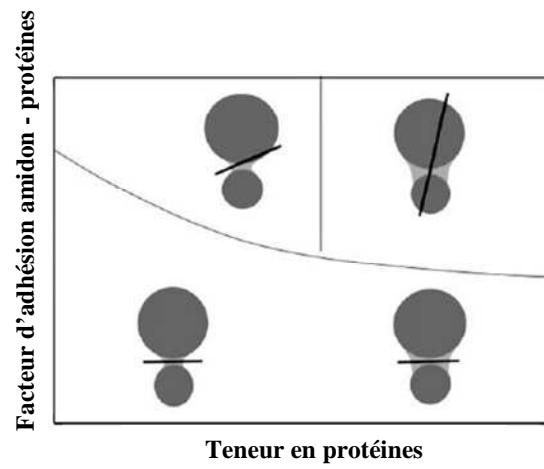


Figure 7: Mode de dissociation de l'albumen en fonction de la teneur en protéines et du facteur d'adhésion entre amidon et protéines

# MATERIELS ET METHODES

## 1 Matériel végétal

Compte tenu du rôle essentiel joué par les différents allèles du puroindoline sur les caractéristiques des grains et sur le comportement en mouture, un matériel végétal permettant de comparer les effets de ces allèles a été développé dans le cadre du projet FSOV (Fonds de Soutien à l'Obtention Végétale en blé tendre), et mis à disposition pour cette étude. Il s'agit de deux types de lignée quasi-isogéniques pour la dureté, l'une développée par les réseaux INRA (France), et l'autre développée par l'UFS (France).

Les lignées développées par l'INRA sont au nombre de 2 (NILA et NILB), et permettent de comparer les caractéristiques des grains et le comportement en mouture les blés de type hard portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et ceux de type soft portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a. L'allèle Pina-D1a est ainsi partagé par tous les échantillons de ces 2 lignées. Ces dernières avaient déjà été présentées par dans les travaux de Greffeuille et al (2006b).

Les lignées développées par l'UFS sont au nombre de 3 (NIL1, NIL2 et NIL3), et permettent de comparer les caractéristiques des grains et les comportement en mouture des blés de type hard qui diffèrent par les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pina-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d. L'allèle Pina-D1a est également partagé par tous les échantillons de ces lignées.

Pour évaluer les résultats potentiellement obtenus à partir de l'étude des lignées quasi-isogéniques pour la dureté et pour tenter de généraliser, une collection de 50 variétés cultivées a été utilisée en parallèle. Ces 50 cultivars possèdent tous l'allèle Pina-D1a et sont répartis comme suit en fonction de leur allèle Pin-b : 7 cultivars soft portant l'allèle Pinb-D1a, 19 cultivar hard portant l'allèle Pinb-D1b, 4 cultivars hard portant l'allèle Pinb-D1c et 20 cultivars hard portant l'allèle Pinb-D1d. l'effectif total des cultivars hard est donc de 43.

Parmi les cultivars portant l'allèle Pinb-D1d, on trouve Soissons, qui est reconnu par les meuniers pour son excellente valeur meunière, et qui est utilisé comme témoin dans ce travail.

De même, compte tenu de l'importance des facteurs environnementaux sur les caractéristiques des grains notamment sur la vitrosité, le matériel génétique a été cultivé sous diverses conditions environnementales pour faire varier la vitrosité. Ainsi ces blés ont été cultivés en France sur 2 à 3 années de récolte (récolte 2007 pour NILA et NILB, et récoltes 2008 et 2009 pour toutes les lignées). Pour chacune des années de récolte 7 lieux distincts ont été choisis pour cultiver les grains (Figure 8). Cependant, seul les lieux Clermont-Ferrand,

Estrées-Mons et Rennes sont communs aux 3 années de récolte. Enfin, sur chaque lieu de culture, 2 différents niveaux d'apport azoté (N unités et N+50 unités) ont été appliqués afin de faire varier la teneur en protéines des grains, qui pourrait entraîner une variation de la vitrosité. Le niveau N correspond à une fertilisation azotée standard, calculée par la méthode des bilans suite à une analyse du sol sachant que la plante a besoin de 3kg d'azote par quintal. Le niveau N+50 se distingue du niveau N par un apport complémentaire de 50 unités d'azote à la floraison). Ce dernier apport a pour objectif l'augmentation de la teneur en protéines. Le tableau 2 résume le dispositif expérimental mis en place.

Tableau 2: Répartition des lignées quasi-isogéniques et variétés sur les lieux de culture et les années de récolte

Années de récolte	2007	2008	2009
Lignées/Variétés cultivées	NILA, NILB Variétés cultivées	NILA, NILB NIL1, NIL2, NIL3 Variétés cultivées	NILA, NILB NIL1, NIL2, NIL3 Soissons
Lieu de culture (département)	Louville (28) Chartrainvilliers (28) Mons (59) Estrées-Mons (80) Le Moulon (91) Rennes (35) Clermont-Ferrand (63)	Capelle (59) Estrées-St-Denis (60) Maule (78) Estrées-Mons (80) Orgeval (78) Rennes (35) Clermont-Ferrand (63)	Milly (91) Froissy (60) Auchy (59) Estrées-Mons (80) Le Moulon (91) Rennes (35) Clermont-Ferrand (63)

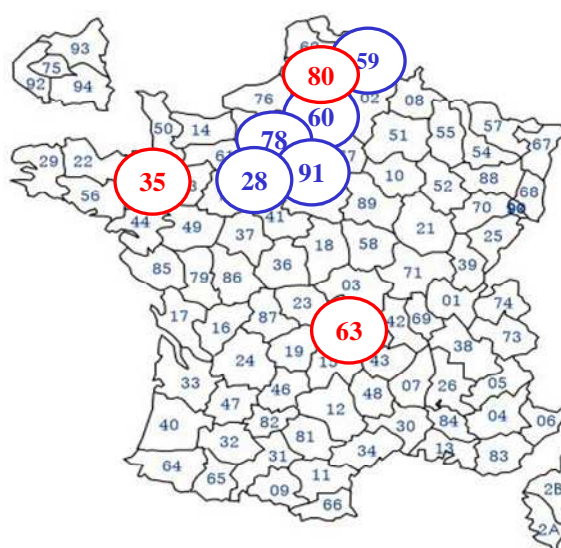


Figure 8: Départements de culture du matériel végétal : en rouge les lieux fixes sur les 3 années, en bleu les lieux variables

## 2 Caractérisation des grains

Après la récolte les échantillons ont été nettoyés à l'aide d'un Nettoyeur Séparateur Plan (NSP, Tripette & Renaud, France) puis caractérisés avant d'être conservés à 4°C.

La caractérisation des échantillons concerne les caractéristiques physiques telles que la texture du grain (dureté et vitrosité), le Poids de Mille Grains (PMG), et le Poids Spécifique (PS) qui est en fait la masse à l'hectolitre.

### 2-1 Détermination de la dureté NIRS

Les mesures de dureté des grains ont été réalisées par spectrométrie proche infra rouge selon la méthode 39-70A, AACC 1995. Cette méthode consiste à broyer les grains, puis à utiliser la spectrométrie de réflexion dans le proche infrarouge pour faire une lecture des variations de taille et de distribution des particules du broyat. Le spectromètre est préalablement calibré sur la base de l'information spectrale d'échantillons choisis comme représentatifs de la gamme de dureté. La dureté NIRS est alors exprimée par un nombre entier compris entre 0 et 100. Le nombre 25 représente la moyenne de dureté des blés de type soft tandis que 75 représente la moyenne des blés de type hard. Entre les deux, des valeurs intermédiaires existent « d'extra soft » à « extra hard » en passant par « médium soft » et « médium hard ».

Quelques mesures de dureté ont été faites selon la méthode du Particle Size Index (méthode AACC 55-30 modifiée par Lebrun et *al.* 1988) sur certains échantillons pour comparer et valider les tendances.

### 2-2 Evaluation de la vitrosité

Le pourcentage de grains vitreux a été déterminé visuellement à l'aide du farinotome de Pohl (Versuchs und Lehranstalt für Brauerei, Berlin, Allemagne) qui permet de sectionner transversalement 50 grains à la fois. Les grains sont alors classés en 5 classes selon la proportion de la zone vitreuse (translucide) observée sur la surface comme suit : Classe 1: 0% de la surface (est translucide) ; Classe 2 : 25% de la surface ; Classe 3 : 50% de la surface ; Classe 4 : 75% ; Classe 5 : 100% de la surface. Un effectif total de 500 grains est ainsi utilisé pour la caractérisation de chaque échantillon. La valeur finale de la vitrosité est obtenue en faisant la moyenne pondérée des nombres de grains dans chaque classe 
$$\text{Vitrosité} = \frac{(N1*0 + N2*0,25 + N3*0,50 + N4*0,75 + N5*1)}{(N1+N2+N3+N4+N5)}$$

N1, N2, N3 ; N4 ; N5 étant les nombres de grains comptés respectivement dans la classe 1, classe 2, classe 3, classe 4 et classe 5.

### 2-3 Détermination du Hardness Index

Les mesures de dureté SKCS ont été réalisées par l'UFS. Les mesures ont été faites selon la méthode AACC 55-31 (AACC 2000), à partir d'un effectif de 100 grains pour chaque échantillon, à l'aide du single-kernel characterization system (SKCS) 4100 (Perten Instruments Anorth America INC, Springfield, IL).

### 2-4 Détermination du poids spécifique

Le poids spécifique (PS) est la masse volumique apparente des grains mesurés tels qu'ils se logent dans un récipient de volume connu. La mesure est faite d'une façon rapide et simple, conventionnelle mais normalisée. Le résultat est exprimé en kilogrammes par hectolitre. On verse le blé dans la trémie Niléma-litre (Chopin Technologies) puis on ouvre le clapet obturateur de la trémie. On introduit ensuite, doucement et sans à coup, le couteau d'arasement dans la glissière jusqu'à la butée en maintenant le récipient mesureur immobilisé. Enfin, on enlève la trémie avec le surplus de grains et on effectue une pesée à 1g près. Les essais sont systématiquement effectués en double afin de contrôler la répétabilité des mesures. Si les écarts sont importants, on effectue un nouvel essai.

### 2-5 Détermination du poids de mille grains (PMG),

Le poids de mille grains a été déterminé par la pesée de la masse d'un lot d'échantillons contenant un effectif de 1000 grains.

## 3 Mesures des masses volumiques

Les masses volumiques ont été mesurées à l'aide d'un pycnomètre à gaz (Quantachrom Corp., Syosset, NY). Le gaz utilisé est l'azote. Environ 7g de grains ou 5g de semoules sont pesées dans une coupelle puis introduites dans la chambre du pycnomètre pour la lecture du volume. Le pycnomètre est préalablement calibré pour tenir compte du volume à vide de la coupelle. La loi des gaz parfaits est ensuite utilisée pour calculer le volume occupé par l'échantillon à partir du volume à vide de la coupelle. Le rapport masse pesée sur volume mesuré est alors calculé.

## 4 Mouture des grains

Le fractionnement des grains a été réalisé à l'aide du mini moulin développé par Chopin Technologies (France), l'INRA et ARVALIS – Institut du végétal dans le cadre du

consortium Valeur meunière. Ce mini moulin a fait l'objet du brevet numéro 0905572 du 20 novembre 2009 déposé en France conjointement par l'INRA, ARVALIS et CHOPIN, qui est en train d'être élargi aux autres pays.

Ce moulin comporte 4 compartiments dont 2 compartiments de broyage (Broyeurs B1 et B2), 1 compartiment de Claquage et 1 compartiment de Convertissage (Figure 9). Ces compartiments sont assemblés en deux unités, l'une contenant le broyeur 1 et le convertisseur, l'autre contenant le deuxième broyeur et le claqueur. Les broyeurs sont constitués de trois cylindres cannelés fixes tandis que le claqueur et le convertisseur sont constitués de deux cylindres lisses fixes. Le tamisage s'effectue par des bluteries centrifuges dont l'orientation des pales a été spécifiquement étudiée de manière à faciliter la vitesse d'avancement des produits. Chaque bluterie est constituée d'un ou plusieurs tamis délimitant les différentes fractions. La bluterie associée au broyeur B1 est constituée de 3 tamis de tailles respectives de 200  $\mu\text{m}$ , 500 $\mu\text{m}$  et 1000 $\mu\text{m}$ . Les particules de taille inférieure à 200 $\mu\text{m}$  sont les Farines du B1 ; celle de taille comprise entre 200 $\mu\text{m}$  et 500 $\mu\text{m}$  sont les fines semoules du B1 ; celle de taille comprise entre 500 $\mu\text{m}$  et 1000 $\mu\text{m}$  sont les grosses semoules du B1 et enfin celles de taille supérieure à 1000 $\mu\text{m}$  sont les refus du B1. Ces derniers produits sont destinés au broyeur B2 dont la bluterie est identique à celle du broyeur B1. Les produits issus de la bluterie du broyeur B2 sont nommés de la même manière que ceux du B1, à l'exception du refus qui correspond à la fraction Gros Sons. Le compartiment du Claqueur est alimenté par les grosses semoules issues du B1 et du B2. La bluterie du claqueur est constituée de 2 tamis de 200 $\mu\text{m}$  et 500 $\mu\text{m}$  de tailles, permettant d'obtenir des farines (Tailles < 200 $\mu\text{m}$ ), des Fines semoules (200 < taille < 500) et des Fins Sons (tailles > 500 $\mu\text{m}$ ). Enfin le compartiment du convertissage est alimenté par les fines semoules des B1, B2 et du Claquage. La bluterie du convertisseur comporte un tamis de 160 $\mu\text{m}$  qui permet de séparer la farine (taille < 160 $\mu\text{m}$ ) des remoulages (taille > 160 $\mu\text{m}$ ).

Les moutures se font à partir de 300 à 500g de grains. Les opérations de broyage et de tamisage se font en continue tandis que le passage d'un compartiment à un autre se fait manuellement. A chaque étape de la mouture tous les produits intermédiaires et/ou produits finis sont récupérés et pesés séparément pour évaluer les rendements de moutures. Lors d'une mouture complète les remoulages sont réintroduits au convertissage lors d'un deuxième passage à cette étape pour obtenir les farines de convertissage 2 et les remoulages 2. Le diagramme complet de mouture est présenté dans la figure 10.





## 6-1 Teneur en protéines des grains par le NIRS

La teneur en protéines des grains a été déterminée par la méthode de spectrométrie de réflexion proche infrarouge (méthode NIRS) à cause de sa rapidité. L'appareil Infrarouge est préalablement calibré à l'aide d'échantillons analysés selon la méthode de référence (méthode de Dumas).

## 6-2 Teneur en protéines Kjeldahl

La méthode de Kjeldahl a été utilisée pour déterminer la teneur en protéines des fractions de grains (semoules et farines). Environ 1 g d'échantillon est prélevé dans un récipient de type matra puis minéralisé pendant environ 1 heure à l'aide de 15ml d'acide sulfurique concentré à chaud en présence de 2 pastilles de catalyseur Kjeltabs (contenant le  $K_2SO_4$  et  $CuSO_4$ ) pour produire du sulfate d'ammonium. Les ions ammoniums formés sont transformés en ammoniac à l'aide d'un excès de NaOH. Une étape de distillation consiste à chauffer le minéralisat alcalinisé pour permettre à l'ammoniac de se dégager sous forme de vapeur. Cette dernière est condensée et recueillie dans un Erlenmeyer contenant 60 ml d'acide borique à 2% et 3 à 5 gouttes d'indicateur RB (mélange de Rouge de Méthyle et de bleu de méthylène). L'ammoniac ainsi piégé est neutralisé au fur et à mesure de son arrivée par une solution étalonnée d'acide sulfurique.

Un essai à blanc est effectué uniquement sur les réactifs (acide sulfurique concentré plus 50ml d'eau distillée) et sans minéralisation.

La teneur en azote de l'échantillon est donnée par la formule suivante :

$$N(\% \text{ matière humide}) = 0,01401 * T * (V1 - V0) * 100/m$$

Avec :

T : normalité de l'acide sulfurique utilisé pour le titrage

V1 : volume, en millilitre, de la solution d'acide sulfurique versée par le titrateur lors du dosage

V0 : volume, en millilitre, de la solution d'acide sulfurique versée par le titrateur lors de l'essai à blanc

m : masse, en grammes, de la prise d'essai

La teneur en protéines est obtenue en multipliant la teneur en azote par un coefficient de 5,7 utilisé pour le blé.

## 6-3 Extraction et Séparation des classes de protéines par SE-HPLC

L'extraction et la séparation des classes de protéines ont été faites selon la méthode de Morel et al, (2000). 160 mg de broyat de grosses semoules sont introduits dans un tube de

centrifugation de 30 mL puis complétés avec 20 mL de Tampon phosphate 0,1M SDS 0,1%. L'ensemble est placé à agitation à 60°C et agité pendant 80 minutes à l'aide d'un agitateur rotatif réglé à la vitesse de 60 rpm. Après centrifugation (centrifugeuse Beckman modele JA 221) à 39100\*g pendant 30 minutes à 20°C, 1 mL du surnageant (contenant les protéines solubles dans les SDS) est prélevé pour SE-HPLC tandis que le culot est repris avec 5 mL de la solution tampon d'extraction, sonifié pendant 3 minutes à une puissance de 30% (puissance de 3,5 watts à l'aide d'une sonde Vibracell, VC50, Bioblock Scientific, Illkirch, France) de 3 mm de diamètre, puis centrifugé comme précédemment. 1mL de surnageant (contenant les protéines insolubles dans les SDS) est aussi prélevé pour SE-HPLC.

La séparation des protéines contenues dans les extraits est obtenue au moyen d'une colonne TSK gel G4000SWXL (Tosoh Bioscience, Sigma Aldrich, St Quentin Fallavier, France) ayant les caractéristiques suivantes : 7,8 x 300 mm, taille des particules : 8µm, porosité : 450 Å. Celle-ci est précédée d'une pré-colonne Tosoh Bioscience TSK gel SWXL, de caractéristiques 6 x 40 mm, taille des particules 7 µm. Les 2 colonnes sont montées sur une chaîne HPLC Alliance (Waters, St Quentin en Yvelines, France). 20 µL de chaque extrait sont injectés sur la colonne. Les protéines sont éluées par du tampon Phosphate 0,1 M SDS 0,1% à pH 6,8 avec un débit de 0,7 mL/min. L'absorbance des protéines est mesurée à 214 nm. Le pilotage de la chaîne et l'acquisition des données se font au moyen du logiciel Empower (Waters, St Quentin en Yvelines, France).

Le chromatogramme des protéines solubles dans le SDS présente 5 pics nommés F1, F2, F3, F4 et F5 correspondant aux gluténines (F1et F2), aux Gliadines (F3 et F4) et aux albumines (F5) (Figure 11). La surface totale de ces pics correspond à la teneur en protéines dans l'extrait. De même le chromatogramme des protéines insolubles dans le SDS contient 5 pics dont les pics F1 et F2 occupent la plus grande surface (Figure 12).

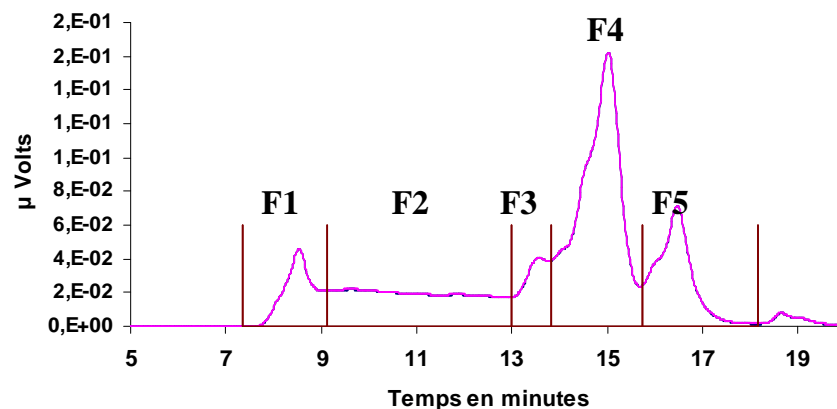


Figure 11: Chromatogramme des protéines solubles dans le SDS

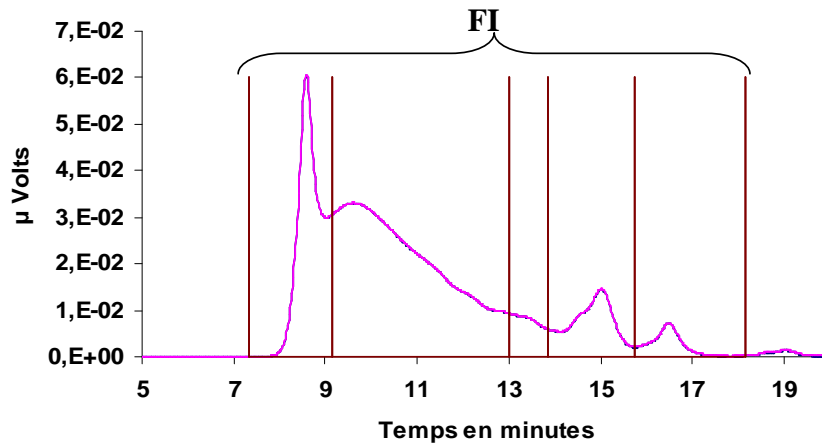


Figure 12: Chromatogramme des protéines insolubles dans le SDS

#### 6-4 Dosage des amidons endommagés

Le dosage des amidons endommagés a été fait par la méthode enzymatique à l'aide du kit Megazyme « Starch damage » (AACC Method 76-31 ; ICC Method No. 164). Une masse de 100mg de farine est introduite dans un tube en polypropylène de 10ml puis 1ml de d'alpha-amylase fongique est ajouté. Le tube est alors vortexé puis incubé à 40°C pendant 10 minutes pour hydrater et hydrolyser les granules d'amidon endommagés en maltosaccharides et en dextrines. 5 ml d'acide sulfurique à 0,2% est ajouté pour stopper la réaction puis le tube est centrifugé à 1000g pendant 5 minutes. 100μl de surnageant est prélevé dans un tube à hémolyse puis, complété avec 100μl d'amyloglucosidase (2U) diluée dans du tampon acétate de sodium pH5 à raison de 0,1% V/V. Le tube à hémolyse est ensuite vortexé puis incubé à 40°C pendant 10 minutes pour transformer les dextrines formées en glucose. A ce stade 2 tubes à hémolyse contenant 200μl d'acétate de sodium pH5 sont ajoutés comme assai blanc et 2 autres tubes à hémolyse contenant chacun 100μl de solution de Glucose Standard plus 100μl de tampon acétate de sodium pH5 sont ajoutés comme témoin glucose. 4ml de réactif GOPOD est ensuite ajouté à chaque tube puis ces derniers sont incubés à 40°C pendant 20 minutes avant la mesure de l'absorbance à 510nm contre les blancs à l'aide d'un spectromètre.

Le taux d'amidon endommagé est donné par le calcul suivant :

$$\text{Amidon endommagés (\%)} = \Delta E * F * 90 * (1/1000) * (100/W) * (162/180) = \Delta E * (F/W) * 8,1$$

Avec :

$\Delta E$  = absorbance mesurée contre le blanc

F = 150 ( $\mu\text{g}$  de glucose)/absorbance de 150  $\mu\text{g}$  de glucose

1/1000 = Correction de volume

100/W = facteur pour exprimer le résultat en pourcentage massique

W = masse humide en milligramme de la prise d'essai.

162/180 = ajustement du glucose au glucose anhydre

Une farine témoin de taux d'amidons endommagés connu et fournie avec le kit est analysée en parallèle avec les échantillons pour valider le résultat du dosage.

## 6-5 Analyse des tailles des granules d'amidon

L'analyse de la distribution des tailles des granules d'amidon a été faite par la méthode décrite par Bancel et al, (2010). L'extraction des granules a été réalisée à partir d'environ 400 mg de grosses semoules broyées manuellement à l'aide d'un mortier et d'un pilon, puis transférées dans un tube Eppendorf de 2,5mL. 1,5 ml d'eau est ajouté puis l'ensemble est placé à 4°C pendant une nuit après agitation au vortex. Le tube est alors centrifugé (11000\*g, 2 minutes), le surnageant éliminé puis 600  $\mu\text{l}$  d'eau est ajouté. Après agitation au vortex les grosses particules de sons sont éliminées à l'aide d'une spatule. 1 mL de Chlorure de Césium (CsCl) est alors déposé délicatement au fond du tube. 5 minutes de repos sont observées puis le tube est centrifugé à 3500g pendant 5 minutes à 10°C. Le surnageant contenant le reliquat de sons est éliminé, et le culot composé essentiellement de granules d'amidon est lavé 3 fois avec 1 mL de solution de Tris-HCl 55 mM pH 6,8 (2,3% (m/v) SDS, 1% (m/v) Dithiothréitol (DTT), 10% (v/v) Glycerol) pendant 30 minutes à 20°C. Au début de chaque lavage les granules subissent un traitement à l'ultrason d'une puissance de 10 watts pendant 20 secondes (à l'aide d'une sonde Vibracell, VC50, Bioblock Scientific, Illkirch, France, de 3 mm de diamètre) avant agitation continue sur agitateur Eppendorf. Les granules sont ensuite lavés 2 fois de plus avec la même séquence mais pendant une durée d'agitation de 1 heure pour chaque lavage. Puis 3 lavages avec de l'eau à 4°C sont effectués sans ultrason avec une durée d'agitation de 5 minutes pour chaque lavage. Le séchage est d'abord réalisé à l'aide de l'acétone à 2 reprises (même séquence qu'avec l'eau), puis par l'air. Chaque étape de lavage et de séchage à l'acétone est suivi par une centrifugation à 3500\*g pendant 5 minutes. Les lavages et centrifugations sont réalisés à température ambiante pour éviter la précipitation du SDS.

La distribution des tailles des granules d'amidon est déterminée par voie humide avec l'eau comme solvant. Les analyses sont faites à l'aide d'un granulomètre laser Malvern Instruments

(France) équipé du logiciel *Mastersizer* version 2000. Les courbes granulométriques obtenues présentent les pourcentages volumiques des particules (pourcentage du volume par rapport au volume total) en fonction de leurs diamètres (en micromètre).

## 6-6 Dosage des puroindolines autour des granules d'amidon

Le dosage des puroindolines autour des granules d'amidon a été réalisé à l'Institut de Recherche sur les céréales à Rome (Italie) dans le cadre d'une collaboration. L'extraction préalable des granules d'amidon a été faite par la méthode décrite par (Corona et al. 2000). 500 µl d'eau distillée est ajoutée à 1 gramme de semoules broyées. Après 30 min à température ambiante les échantillons sont ajoutés à 5 ml de NaCl 0,1 M et mélangés doucement. Un aliquot de 3 ml de la suspension est transféré dans un nouveau tube et un volume égal de NaCl 0,1 M est rajouté. Cette opération est été répétée 2 fois. Les 3 aliquots dans le nouveau tube sont centrifugés à 5000g pendant 5 minutes, le culot est lavé 3 fois avec de l'eau distillée, 2 fois avec du méthanol à 85% (V/V) et lyophilisé.

Les puroindolines ont été extraites, comme décrit par Corona et *al.* (2000) à partir des granules d'amidon séchés à l'air. 50 mg de granules d'amidon ont été suspendus dans une solution contenant du NaCl à 50mM et 50% (v/v) de propan-2-ol. Après sonication pendant quelques secondes, la suspension a été vortexée à température ambiante pendant 1h puis centrifugée à 8000 g pendant 10 minutes. Les protéines du surnageant ont été précipitées avec 2 volumes d'acétone à -20°C pendant une nuit, puis séchées à l'air. Avant le chargement pour le fractionnement sur le A-PAGE les protéines ont été suspendues dans 50 µl de tampon lactate de sodium 8,5 mM (3,4 g/l de NaCl 97% ajusté au pH 3,1 avec de l'acide lactique) et mélangé avec un demi volume de Glycerol 50% (v/v) contenant 0,1% (w/v) de pyronine Y.

Le fractionnement a été réalisé à pH 3,1 dans un appareil Hoeffler SE 600 (Amersham Pharmacia Biotech) utilisant 17% de gel d'acrylamide fonctionnant 430 V jusqu'à ce que le colorant atteigne le fond du gel (Gazza et al. 2005).

Le gel a été scanné à l'aide du densitomètre Sharp JX-330 équipé du logiciel TotalLab 1D Gel Analysis v 1.0 (Amersham-Pharmacia). Les puroindolines ont été quantitativement comparés par le calcul de leurs volumes en pixel. Chaque étape (extraction des puroindolines, fractionnement par A-PAGE et scanne du gel) a été répétée 3 fois, et les volumes présentés sont des moyennes sur 3 répétitions.

## 6-7 Détermination de la teneur en eau

Les produits à analyser sont pesés (environ 2 grammes) dans des coupelles. Les masses des coupelles vides et les masses des produits sont notées respectivement M0 et M1. Les coupelles sont placées dans une étuve à 121°C pendant 2 heures. Après ce temps les coupelles contenant les produits sont refroidies pendant environ 15 minutes dans un dessicateur, puis pesées à nouveau et la masse notée M2. Le calcul de la teneur en eau exprimée en pourcentage se fait comme suit :

$$\text{MH (\%)} = 100 * (\text{M2-M0})/\text{M1}$$

## 7 Traitements statistiques

Les traitements statistiques (analyses de variance et analyse en composantes principales) sont réalisés à partir des logiciels XLSTAT et STATBOX. Le test Tukey a été utilisé pour la comparaison multiple des moyennes. Le Tableau de corrélation des Pearson a été utilisé pour établir les corrélations entre les paramètres analysés.

# **CHAPITRE I : Etude des effets des facteurs génétiques et agronomiques sur la variabilité des caractéristiques physiques et biochimiques des grains**

Le plan d'expérience mis en place dans cette étude est original et intéressant parce qu'il permet, non seulement d'évaluer l'effet des sources de variation que sont l'année de récolte, le lieu de culture, le niveau d'apport azoté, et la lignée (c'est à dire le fond génétique) sur les différentes caractéristiques des grains, mais aussi de comparer les effets des combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a, Pina-D1a/Pinb-D1b, Pina-D1a/Pinb-D1d, sur les caractéristiques des grains au travers des lignées quasi-isogéniques pour la dureté de type hard/soft (portant les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1a), et de type hard/hard (portant les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d).

Dans ce plan d'expérience les récoltes 2007, 2008 et 2009 sont étudiées chacune sur 7 lieux de culture en France et 2 niveaux d'apport azoté par lieu. Mais sur les 7 lieux analysés par années 3 lieux sont communs aux 3 années de récoltes (Clermont-Ferrand, Rennes, Estrées-Mons). Dans un premier temps chaque année de récolte a fait l'objet d'une étude individuelle. Ensuite une analyse a été réalisée pour l'ensemble des données des 3 années de récolte.

Dans toutes ces études, les lignées NILA et NILB qui correspondent à des couples hard/soft obtenus de croisements différents ont été analysées séparément des lignées NIL1, NIL2, NIL3 qui correspondent à des couples hard/hard, tous de croisements indépendants compte tenu de leurs natures différentes.

## **I Analyse des caractéristiques de la récolte 2007**

La récolte 2007 concerne 56 échantillons issus des lignées NILA (28 échantillons) et NILB (28 échantillons). Ces échantillons proviennent de 7 lieux de culture (Clermont-Ferrand, Rennes, Estrées-Mons, Le Moulon, Louville, Chartrainvilliers, Mons) et 2 niveaux d'apport azoté (N et N+) pour chaque lieu. La liste des échantillons de cette récolte, ainsi et leurs caractéristiques est présentée en annexe 1.

### **I-1 Variabilité des caractéristiques**

Le Tableau 3 donne quelques descriptions de la variabilité des caractéristiques des échantillons récoltés. Les coefficients de variation (CV) montrent de grandes variabilités des valeurs de Dureté NIRS (66,6%), de vitrosité (40,4%), de PMG (11,9%), et de teneur en protéines (7,0%) par ordre décroissant. La variabilité du PS est faible (CV=3,1%).



Les valeurs des moyennes et des médianes sont proches, ce qui traduit de bonnes répartitions des valeurs des caractéristiques autour des moyennes.

La figure 13 confirme la texture soft des échantillons portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (valeurs faibles, comprises entre 2 et 24) et la texture hard des échantillons portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b (valeurs fortes, comprises entre 45 et 87). Mais la plage de variation de la dureté des échantillons soft est faible, ce qui pourrait constituer un biais lors de l'étude de la dureté chez les soft. La plage de variation de la vitrosité est globalement faible car 50 échantillons sur 56 ont des vitrosités comprises entre 10% et 40%. Ces échantillons sont donc majoritairement farineux (valeur de vitrosité < 50%). Seuls 5 échantillons de Estrées-Mons (dont les 4 hard) et un échantillon hard de Louville ont des vitrosités supérieures à 50%.

Tableau 3: Statistique des caractéristiques des lignées NILA et NILB de la récolte 2007

Caractéristique	Effectif	Min	Max	Médiane	Moyenne	Ecartype	CV (%)
PMG (g)	56	32,1	49,6	40,6	40,2	4,8	11,9
PS (kg/hl)	56	71,0	81,0	77,5	76,8	2,3	3,1
Dureté (NIRS)	56	2,0	87,0	34,0	38,6	25,7	66,6
Vitrosité (%)	56	13,9	69,1	27,8	30,5	12,3	40,4
Protéines (%)	56	10,3	13,8	12,1	12,2	0,9	7,0

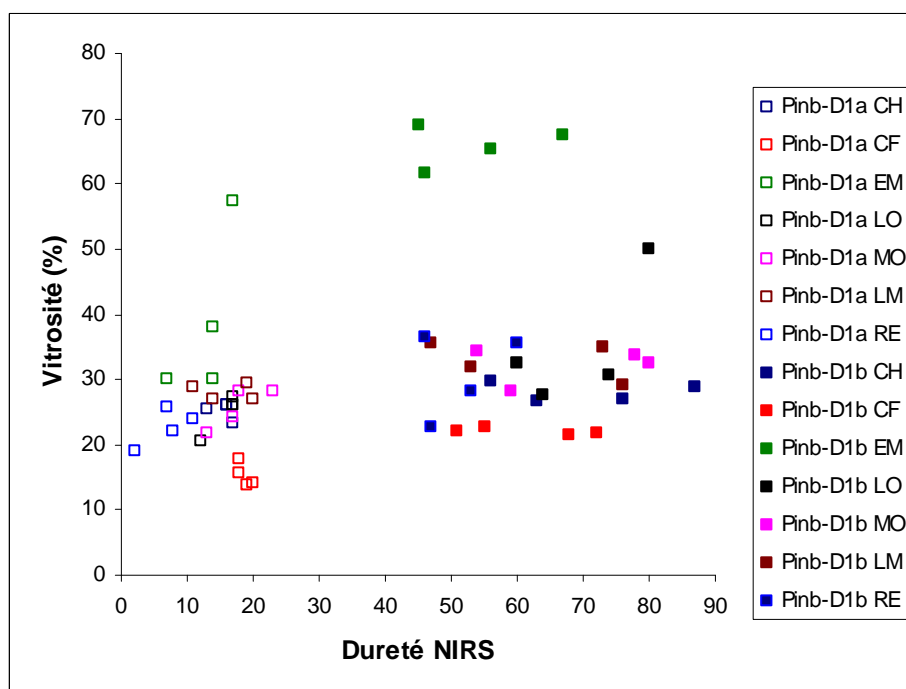


Figure 13: Relation entre la Dureté NIRS et la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2007. CH : Chartrainvilliers ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; LO : Louville ; MO : Mons ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes. Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b

## I-2 Influence des facteurs sur les caractéristiques des échantillons de la récolte 2007

Une analyse de variance a été réalisée afin de classer les effets des facteurs lignées (NILA, NILB), combinaison d'allèles (Pina-D1a/Pinb-D1a et Pina-D1a/Pinb-D1b), lieu de culture et niveau d'azote sur la variabilité des caractéristiques des grains (Tableau 4).

La variabilité du PMG est majoritairement contrôlée par les facteurs lignée (NILA > NILB) et lieu de culture par ordre décroissant. Les interactions Lignée\*Lieu et Lieu\*Azote ont également une influence sur le PMG. La faible variabilité du PS est principalement contrôlée par le lieu de culture, et par les interactions lieu\*lignée, lieu\*Pinb et lieu\*Azote.

La dureté NIRS et la vitrosité sont très largement influencées par la combinaison d'allèles de puroindolines. La combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a présente des valeurs de dureté et de vitrosité plus faibles que la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b. L'effet de la combinaison d'allèles de puroindolines sur la dureté était attendu car les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1a et Pina-D1a/Pinb-D1b confèrent respectivement les textures soft (faible dureté) et hard (forte dureté) des grains conformément à la littérature (Giroux and Morris 1997; Giroux and Morris 1998; Lillemo and Morris 2000). Cependant l'effet de la combinaison d'allèles de puroindolines sur la vitrosité (figure 14) n'avait pas encore été clairement montré. Si les travaux de (Nelson et al. 1995) ont mentionné une possible origine génétique de la vitrosité qui pourrait être situé sur le locus Ha localisé sur le bras court du chromosome 5D qui détermine majoritairement la dureté, Weightman et al. (2008) ne relèvent pas de différences claires de vitrosité des grains selon leur classe de dureté. Les facteurs lignée et lieu ont également une forte influence sur la dureté par ordre décroissant, alors que la vitrosité est plus fortement influencée par le lieu de culture (Figure 15) et par le niveau d'azote (figure 16). Ce résultat confirme que la dureté est beaucoup plus génétiquement contrôlée alors que la vitrosité est plus contrôlée par les conditions environnementales (Parish and Halse 1968).

La variabilité de la teneur en protéines est largement contrôlée par le niveau d'apport azoté, et faiblement contrôlée par le lieu de culture et la lignée. L'apport azoté N+ conduit à des teneurs en protéines plus élevées que l'apport N. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature (Abad et al. 2004; Campbell and Davidson 1979; Johansson 2000) et de Abad et al. (2004) sur le blé dur.

Tableau 4: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2007. Les valeurs sont les carrés moyens. \* ; \*\* ; \*\*\* : significatif au niveau de probabilité respectif de 0,05 ; 0,01 ; 0,001 ; ns : non significatif

Source	DL	PMG	PS	Dureté	Vitrosité	Protéines
Lignée (Q)	1	301,8***	ns	1705,0***	107,0*	1,7***
Pinb (P)	1	ns	ns	31635,0***	1255,5***	ns
Lieu (L)	6	112,0***	37,1***	228,6***	866,6***	3,1***
Azote (A)	1	ns	ns	ns	224,2**	10,6***
Q*P	1	ns	ns	707,2***	ns	ns
Q*L	6	22,1***	5,9***	ns	ns	0,4*
Q*A	1	ns	ns	ns	ns	ns
P*L	6	ns	2,1**	**	131,0***	ns
P*A	1	ns	ns	ns	ns	0,6*
L*A	6	11,4***	2,3**	ns	ns	0,5***

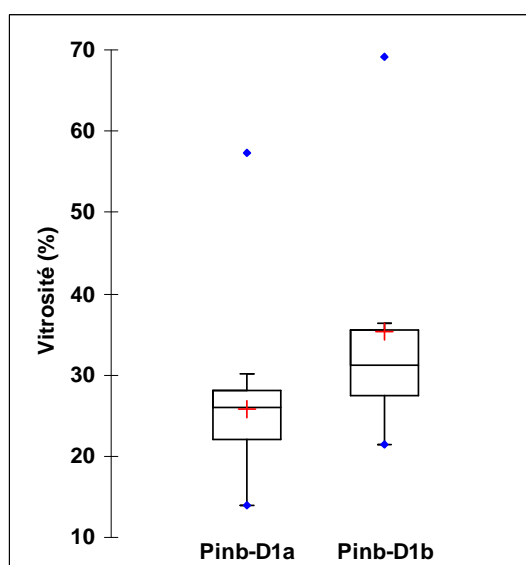


Figure 14: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2007, en fonction de la combinaison d'allèles de puroindolines : Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b

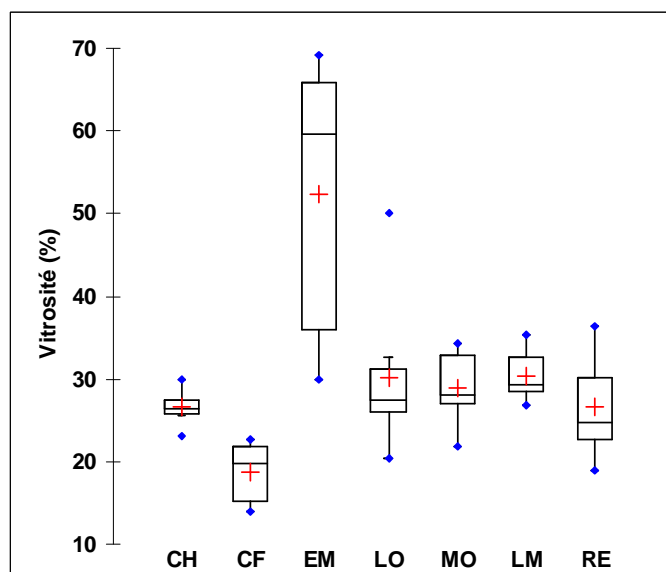


Figure 15: Variabilité de la vitrosité des lignées NILA et NILB en fonction des lieux de culture de la récolte 2007. CH : Chartrainvilliers ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; LO : Louville ; MO : Mons ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes.

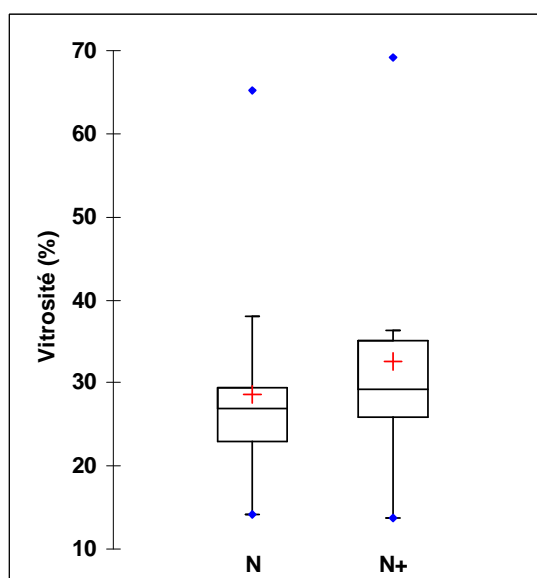


Figure 16: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2007 en fonction du niveau d'azote.

### I-3 Corrélation entre les caractéristiques des grains

La matrice de corrélation de Pearson a permis d'évaluer les éventuelles corrélations entre les différentes caractéristiques analysées (Tableau 5). Les valeurs de coefficients de corrélations entre les différentes caractéristiques des grains sont faibles, à l'exception de celle entre le PMG et le PS ( $r=0,79$ ). De plus une corrélation très hautement significative a été observée entre la vitrosité et la teneur en protéines ( $r=0,640$ ) (Figure 17). Ainsi une augmentation de la

vitrosité apparaît corrélée avec l'augmentation de la teneur en protéines. Cependant il semble exister une valeur seuil de teneur en protéines (environ 13%), au dessus de laquelle la corrélation n'est pas significative. La corrélation négative entre la vitrosité et le PS est très hautement significative. De manière cohérente, le PS apparaît corrélé également négativement à la teneur en protéine des grains ( $r=-0,399$ ). La corrélation entre la vitrosité et la dureté NIRS apparaît par contre faiblement significative.

Tableau 5: Coefficients de corrélation ( $r$ ) entre les caractéristiques (PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées) des grains des lignées NILA et NILB de la récolte 2007. \*, \*\*, \*\*\* : Les valeurs sont significativement différentes de 0 à aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%.

Variabiles	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (% m.s.)	Dureté (NIRS)
PS (kg/hl)	0,791***			
Protéines (% m.s.)	ns	-0,399**		
Dureté (NIRS)	ns	ns	ns	
Vitrosité (%)	-0,401**	-0,489***	0,640***	0,310*

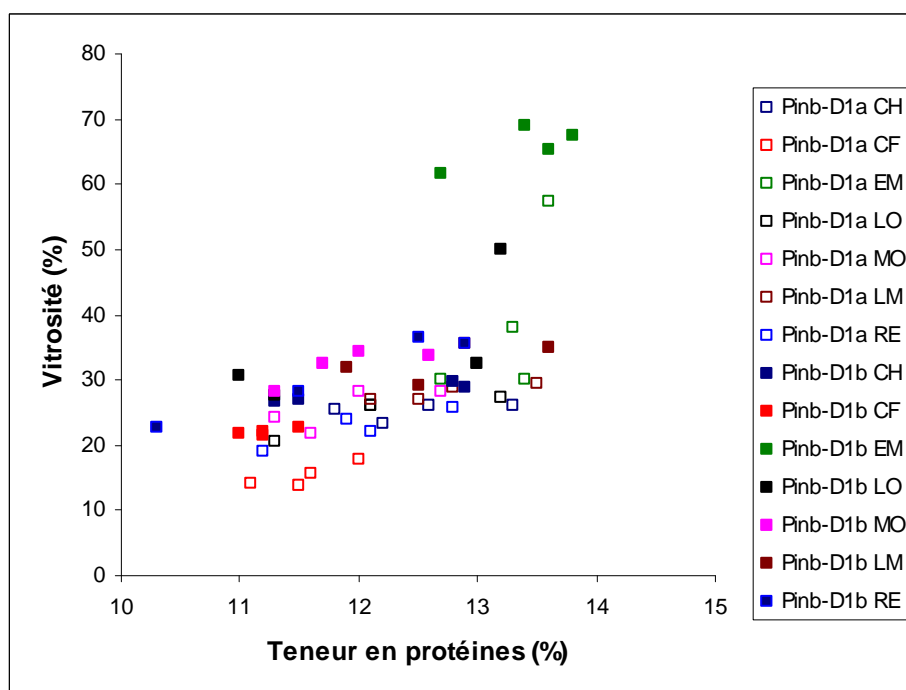


Figure 17: Relation entre la teneur en protéines et la vitrosité des grains des échantillons de NILA et NILB de la récolte 200 : Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b

## II Analyse des caractéristiques de la récolte 2008

La récolte 2008 concerne 140 échantillons issus des lignées quasi-iso NILA (28 échantillons), NILB (28 échantillons), NIL1 (28 échantillons), NIL2 (28 échantillons), NIL3 (28

échantillons). Ces échantillons proviennent de 7 lieux de culture (Clermont-Ferrand, Rennes, Estrées-Mons, Orgeval, Estrées-Saint-Denis, Cappelle, Maule) et de 2 niveaux d'apport azoté (N et N+) pour chaque lieu. La liste des échantillons de cette récolte, ainsi et leurs caractéristiques est présentée en annexe 2.

## II-1 Variabilité des caractéristiques des échantillons

Le tableau 6 présente quelques statistiques descriptives des caractéristiques des échantillons de la récolte 2008.

Les coefficients de variation (CV) de la récolte 2008 montrent également une grande variabilité des valeurs de Dureté (32,4%), de vitrosité (32,2%), de PMG (9,2%), et de teneur en protéines (8,4%) par ordre décroissant. Cet ordre est le même que celui de la récolte 2007. Le coefficient de variation du PS (2,2%) reste faible comme dans la récolte 2007.

Les valeurs des moyennes et des médianes sont également proches, traduisant aussi les bonnes répartitions des valeurs des caractéristiques autour des moyennes.

Les valeurs des moyennes et médianes des caractéristiques de PMG, PS, Dureté et de vitrosité sont plus élevées pour la récolte 2008 par rapport à celles de la récolte 2007. Mais les valeurs de la teneur en protéines sont légèrement plus faibles en 2008 qu'en 2007.

Les figures 18 et 19 confirment la texture soft des échantillons portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (valeurs faibles, comprises entre 17 et 35) et la texture hard des échantillons portant les combinaisons d'allèles de puroindolines Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d (valeurs fortes, comprises entre 51 et 100).

On observe aussi une plus large plage de variation de la vitrosité chez les hard des couples hard/soft (23,1% - 79,3%) et chez les couples hard/hard (22,5% et 80%). Les effectifs des échantillons vitreux (Vitrosité > 50%) et farineux (Vitrosité < 50%) semblent équilibrés, ce qui favorise une bonne étude de la vitrosité. Par contre la plage de variation de la vitrosité est relativement plus faible chez les soft (valeurs comprises entre 21% et 55%).

Tableau 6: Statistique des caractéristiques des lignées NILA, NILB, NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008

Caractéristiques	Effectif	Min	Max	Médiane	Moyenne	Ecartype	CV (%)
PMG (g)	140	35,4	54,6	45,4	45,2	4,1	9,2
PS (kg/hl)	140	77,0	84,5	81,0	80,9	1,8	2,2
Dureté (NIRS)	140	17,0	100	71,5	65,7	21,3	32,4
Vitrosité (%)	140	21,4	80,0	53,9	52,2	16,8	32,2
Protéines (%)	140	9,7	14,8	11,9	11,9	1,0	8,4

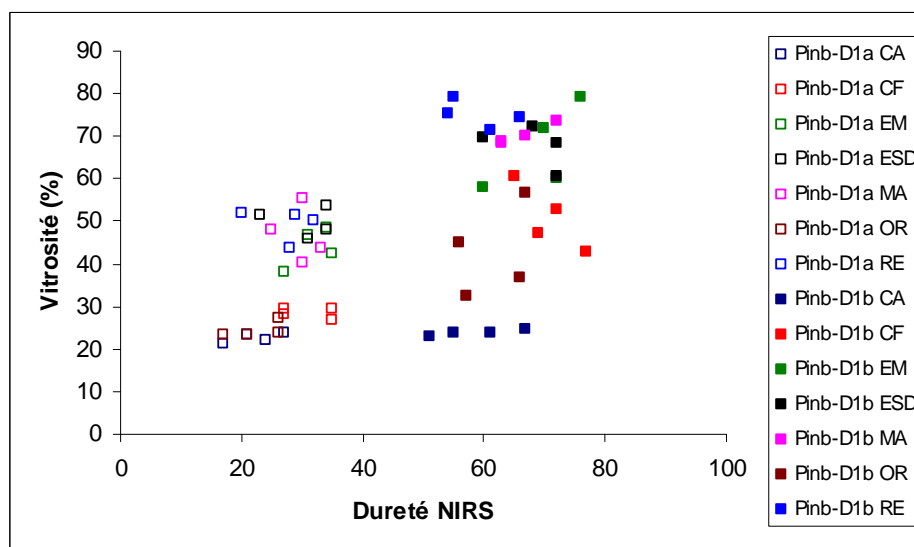


Figure 18: Relation entre la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes.

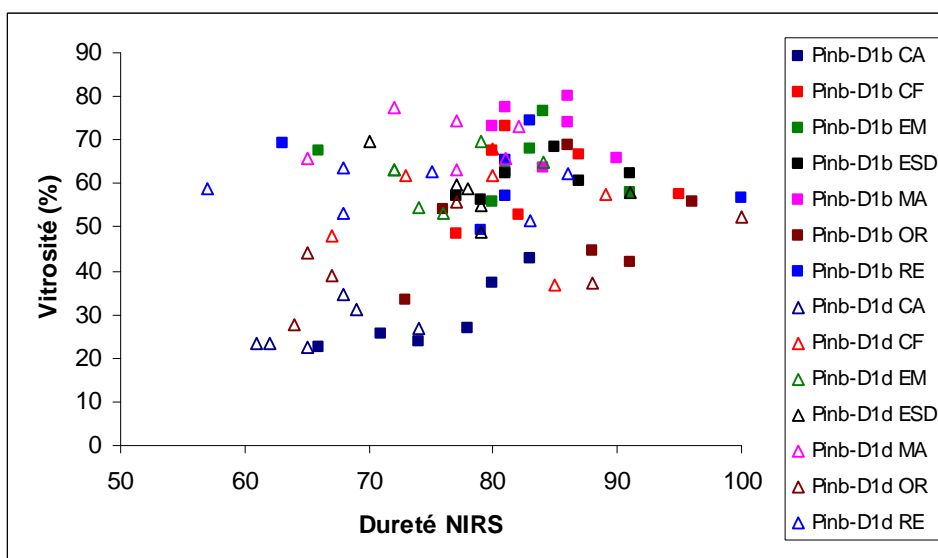


Figure 19: Relation la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes.

## II-2 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées de la récolte 2008

L'analyse de la variance a été utilisée pour évaluer l'effet des sources de variation sur les caractéristiques des grains.

### II-2-1 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NILA et NILB.

Les résultats de l'analyse des lignées NILA et NILB sont présentés dans le tableau 7. L'analyse de la variance montre que la variabilité du PMG est majoritairement contrôlée par les facteurs lignée (NILA > NILB). L'allèle Pinb et le lieu de culture ont aussi un effet très significatif sur le PMG (par ordre décroissant). La variation du PS est principalement contrôlée par la lignée (NILA > NILB) et le lieu de culture, et plus faiblement par la combinaison d'allèles de Puroindoline. Les interactions lignée\*allèles et lignée\*lieu ont aussi un effet très significatif sur le PS. La lignée et le lieu de culture semblent donc être les facteurs les plus influents sur le PMG et le PS. Mais l'effet de la lignée sur le PMG semble plus fort que celui du lieu alors que pour le PS les effets de ces 2 facteurs semblent équilibrés.

La dureté et la vitrosité sont très largement contrôlées par la combinaison d'allèle de Puroindolines. Ce résultat confirme ceux de la récolte 2007 : les échantillons portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a présentent les valeurs de dureté et de vitrosité (Figure 20) plus faibles que ceux portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b. Les autres facteurs influant sur la dureté sont la lignée, le lieu, les interactions lignée\*lieu et lieu\*azote dans l'ordre décroissant ; tandis que ceux influant sur la vitrosité sont le lieu de



culture (Figure 21), l'azote (Figure 22) et les interactions allèles\*lieu, lignées\*allèles et lieu\*azote dans l'ordre décroissant.

La lignée constitue la seconde source de variation de la dureté (NILA > NILB) alors qu'elle n'a pas d'effet significatif sur la vitrosité. A l'opposé, la vitrosité est aussi contrôlée par le lieu et l'azote qui sont des facteurs environnementaux. Ces résultats confirment encore les études qui montrent une forte origine génétique de la dureté comparativement à la vitrosité qui a de fortes origines environnementales (Parish and Halse 1968).

Tableau 7: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des échantillons de NILA et NILB de la récoltes 2008. Les valeurs sont les carrés moyens. ns : non significatif

Source	DL	PMG	PS	Dureté	Vitrosité	Protéines
Lignée (Q)	1	508,2***	22,5***	396,4***	ns	4,0***
Pinb (P)	1	26,6**	3,7***	19129,0***	5012,3***	ns
Lieu (L)	6	16,6***	24,1***	152,7***	1829,7***	1,9***
Azote (A)	1	ns	ns	ns	374,8***	12,4***
Q*P	1	ns	3,7***	ns	105,7**	ns
Q*L	6	ns	1,3***	28,0*	ns	ns
Q*A	1	ns	ns	ns	ns	ns
P*L	6	ns	ns	ns	138,5***	ns
P*A	1	ns	ns	ns	ns	ns
L*A	6	ns	ns	45,9**	33,1*	0,3*

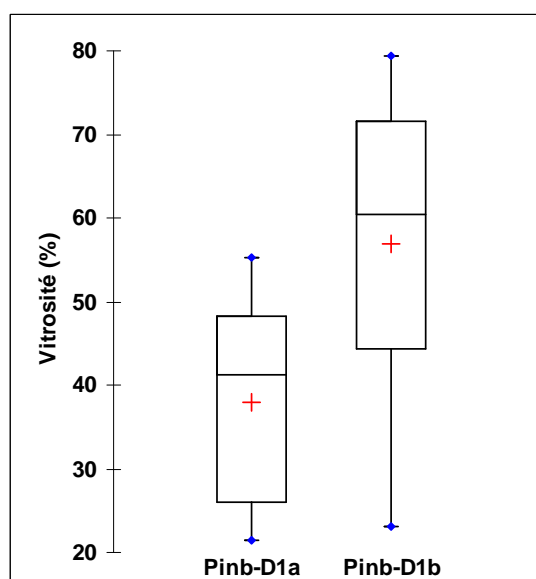


Figure 20: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008, en fonction des combinaisons d'allèles de Puroindolines : Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b

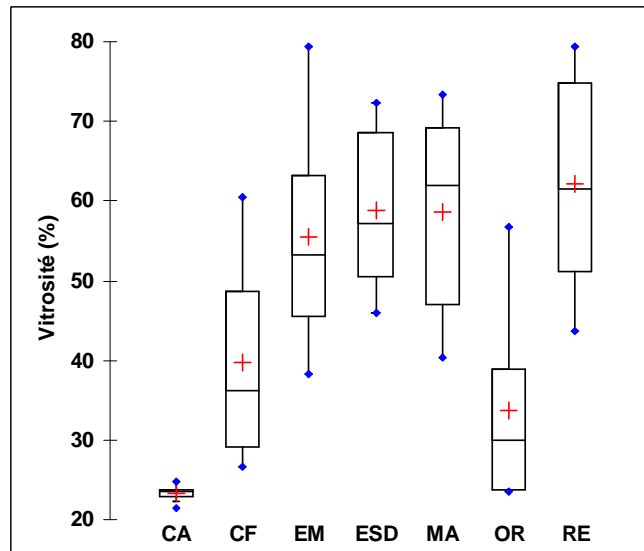


Figure 21: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008, sur les lieux de culture. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes.

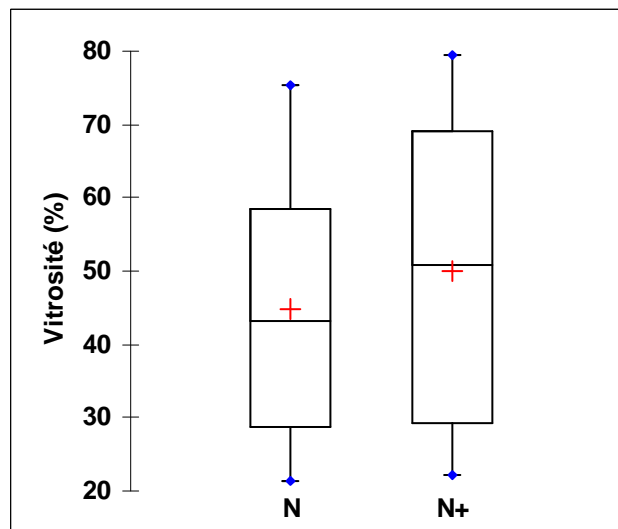


Figure 22: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008, en fonction du niveau d'azote.

La variabilité de la teneur en protéines est majoritairement liée au niveau d'apport azoté conformément à la littérature (Abad et al. 2004; Campbell and Davidson 1979; Johansson 2000). La lignée, le lieu de culture et l'interaction lignée\*azote sont les autres facteurs qui ont un effet significatif sur la teneur en protéines des grains.

## II-2-2 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NIL1, NIL2, NIL3

L'analyse de la variance (Tableau 8) montre que les variabilités du PMG et du PS sont contrôlées par la lignée ( $NIL1 \approx NIL2 < NIL3$ ) et le lieu de culture, et plus faiblement contrôlées par l'interaction lignée\*lieu. Pour ces lignées la combinaison d'allèles de Puroindolines n'a pas d'effet significatif sur le PMG et le PS. L'effet de la lignée semble le plus fort sur la variabilité du PMG. Mais pour le PS, l'effet du lieu de culture semble le facteur le plus fort.

La dureté NIRS est très fortement contrôlée par la combinaison d'allèles de Puroindolines. En effet, les échantillons portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b présentent des valeurs de dureté plus élevées que ceux portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d (figure 24). Ce résultat montre que malgré la texture hard commune aux échantillons de ces lignées, la nature de la combinaison d'allèles de Puroindolines modifie les valeurs de dureté conformément aux travaux de Ma et al (2009).

Le niveau d'azote, le lieu de culture, l'interaction lieu\*azote et plus faiblement la lignée et l'interaction lignée\*lieu sont les autres facteurs qui influent sur la dureté dans l'ordre décroissant.

La variabilité de la vitrosité est très fortement contrôlée par le lieu de culture (Figure 25), la lignée, le niveau d'azote (Figure 26) et l'allèle de Pinb (Figure 27) dans l'ordre décroissant. Les interactions lignée\*lieu, lignée\*allèles et lieu\*azote ont aussi des effets significatifs sur la vitrosité. Bien que l'effet de la combinaison d'allèles de Puroindolines soit très hautement significatif sur la vitrosité (Pina-D1a/Pinb-D1b présente des vitrosités plus fortes que Pina-D1a/Pinb-D1d) ce facteur ne constitue pas la plus grande source de variation de la vitrosité contrairement aux lignées NILA et NILB. Cela montre que l'effet des combinaisons d'allèles de Puroindolines sur la vitrosité est plus fort quand on compare des combinaisons d'allèles liées à des textures différentes (hard et soft), et plus faible quand on compare des combinaisons d'allèles toutes liées à la texture hard. Cette étude est la première qui permet de montrer que les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d influent différemment sur les valeurs de vitrosité, Pina-D1a/Pinb-D1b présentant des échantillons de plus fortes valeurs de vitrosité par rapport à Pina-D1a/Pinb-D1d.

Les effets très significatifs du lieu de culture, de l'azote et de la lignée confirment les origines environnementales et variétales de la vitrosité (Parish and Halse 1968).

La variabilité de la teneur en protéines est fortement contrôlée par la lignée, le niveau d'azote, le lieu de culture, et plus faiblement par les interactions lignée\*lieu et lieu azote dans l'ordre décroissant. L'effet très significatif du niveau d'azote sur la teneur en protéines des grains était attendu (Abad et al. 2004; Campbell and Davidson 1979; Johansson 2000) cependant le fait que l'effet de la lignée constitue la plus forte source de variation de la teneur en protéines est particulier pour ces lignées.

Tableau 8: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008. Les valeurs sont les carrés moyens ; ns : non significatif

Source	DL	PMG	PS	Dureté	Vitrosité	Protéines
Lignée (Q)	2	197,5***	5,7***	204,4**	1041,3***	14,1***
Pinb (P)	1	ns	ns	1001,2***	314,1***	ns
Lieu (L)	6	36,7***	35,3***	165,0***	2342,2***	6,7***
Azote (A)	1	ns	ns	429,8***	771,2***	11,7***
Q*P	2	ns	ns	ns	73,5**	ns
Q*L	12	11,3***	0,8*	87,1**	77,2***	0,7***
Q*A	2	ns	ns	ns	ns	0,5*
P*L	6	ns	ns	ns	ns	ns
P*A	1	ns	ns	ns	ns	ns
L*A	6	ns	ns	243,1***	33,7*	0,4*

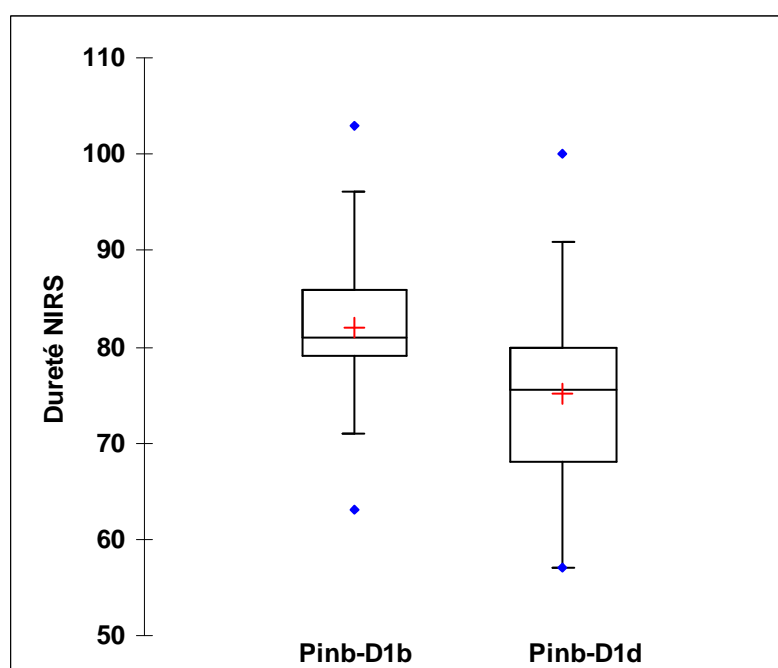


Figure 23: Variabilité de la dureté NIRS des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008 en fonction des combinaisons d'allèles de puroindolines : Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d

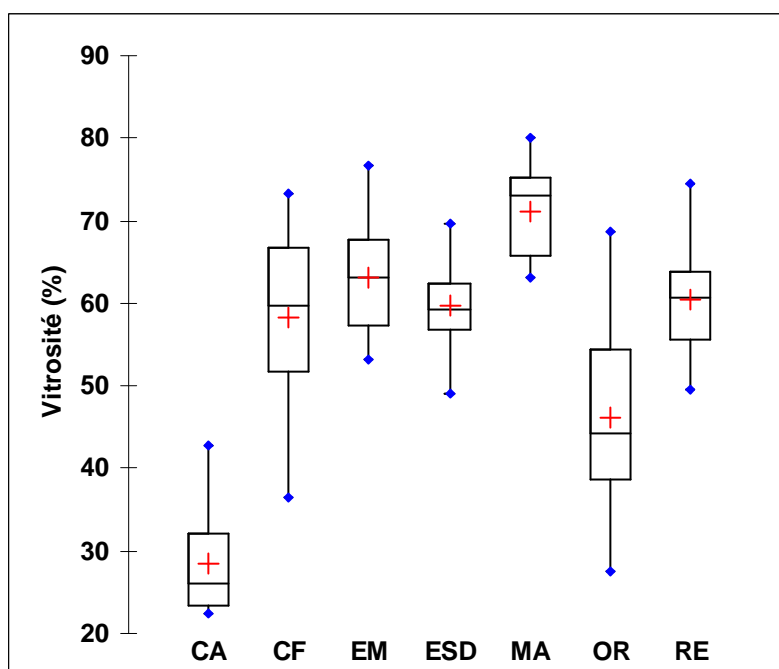


Figure 24: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008 en fonction des lieux de culture. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes.

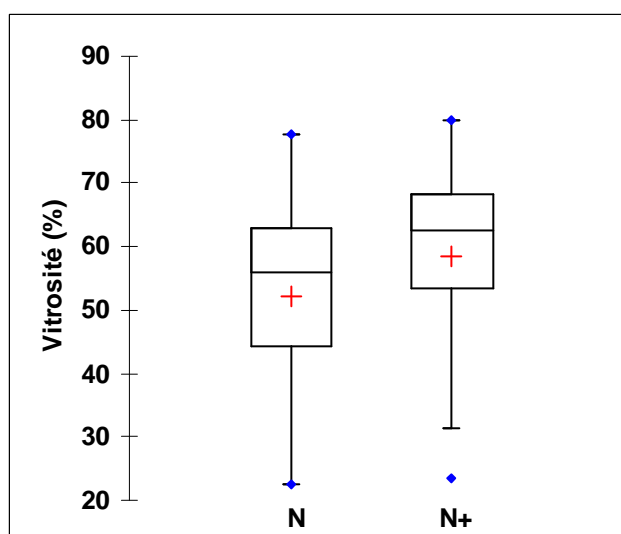


Figure 25: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008 en fonction du niveau d'azote

Par ailleurs, les résultats de cette analyse de variance montrent que la lignée influe de façon très significative sur toutes les caractéristiques des grains. Cela pourrait suggérer que les différences entre les lignées NIL1, NIL2, NIL3 pourraient être plus grandes par rapport aux différences entre les lignées NILA et NILB.

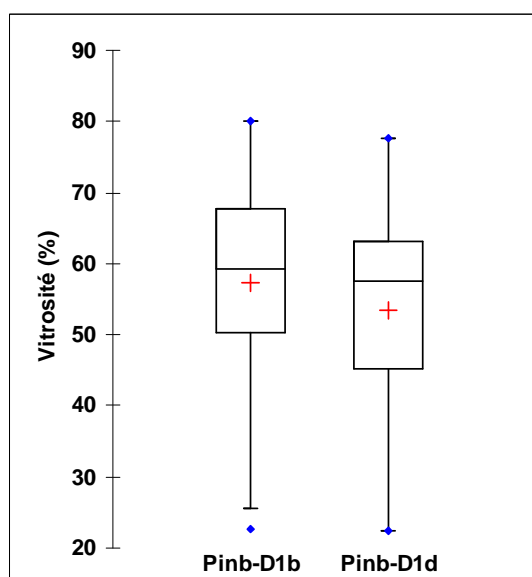


Figure 26: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008, en fonction de la combinaison d'allèles de Puroindolines : Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d

## II-3 Corrélation entre les caractéristiques des grains

### II-3-1 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NILA et NILB

La matrice de corrélation (Tableau 9) montre que les corrélations entre la vitrosité et le PS, la teneur en protéines, et la dureté NIRS sont très hautement significatives (coefficients de corrélations de 0,73 ; 0,43 et 0,59 respectivement). Cependant, si la corrélation teneur en protéines vitrosité est très hautement significative, la valeur du coefficient de corrélation reste faible. En plus on observe sur la figure 14 que pour une même valeur de teneur en protéines on peut trouver des échantillons vitreux (Vitrosité > 50%) et des farineux (Vitrosité < 50%). Ce résultat confirme ici l'effet des combinaison d'allèles de Puroindolines sur la vitrosité car pour une même valeur de teneur en protéines les échantillons portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a sont farineux alors que ceux portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ont tendance à être vitreux. Les corrélations PS - Protéines, PS – Dureté NIRS et Vitrosité – PMG sont aussi significatives. Mais contrairement à la récolte 2007, il n'y a pas de corrélation significative entre le PMG et le PS.

Tableau 9: Coefficients de corrélation ( $r$ ) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2008: les valeurs sont les coefficients de corrélations  $r$ . \* : Valeurs significativement différentes de 0 à un niveau de signification  $\alpha=0,01$ . ns : non significatif ; ns : non significatif

Variables	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (% m.s.)	Dureté (NIRS)
PS (kg/hl)	ns			
Protéines (% m.s.)	ns	0,281*		
Dureté (NIRS)	ns	0,282*	ns	
Vitrosité (%)	-0,279*	0,730***	0,430***	0,589***

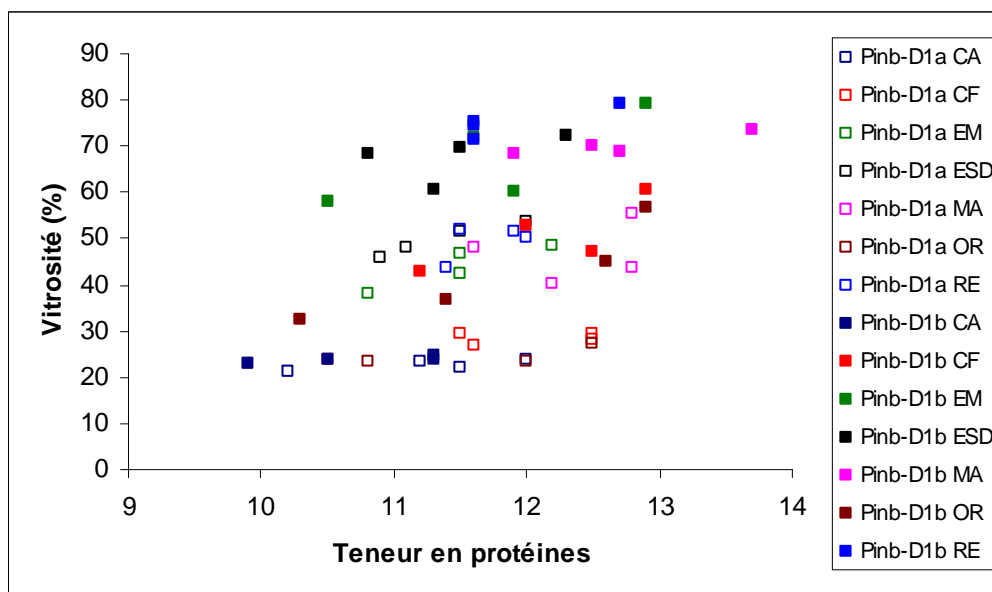


Figure 27: Relation entre la teneur en protéines et la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008 : Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b.

### II-3-2 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NIL1, NIL2, NIL3

Le tableau 10 montre que la vitrosité a des corrélations très hautement significatives avec le PS ( $r=0,467$ ), la teneur en protéines ( $r=0,674$ ) et la dureté NIRS ( $0,328$ ). Le coefficient de corrélation entre la teneur en protéines et la vitrosité est plus élevé que pour les lignées NILA et NILB, mais il reste faible car pour une même valeur de teneur en protéines on peut observer différentes valeurs de vitrosité (Figure 28). Dans cette figure on n'observe pas non plus de valeur seuil de teneur en protéines. Les corrélations PMG – Protéines ( $r=-0,333$ ) et PMG – Vitrosité ( $r=-0,283$ ) sont hautement significatives. Enfin les corrélations Dureté NIRS – PMG ( $r=0,278$ ), Dureté NIRS – PS ( $r=0,223$ ) et dureté NIRS Protéines ( $r=0,262$ ), et PMG – PS ( $r=0,226$ ) sont significatives.

Tableau 10: Coefficients de corrélation ( $r$ ) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008. Les valeurs sont les coefficients de corrélations  $r$ . \* : Valeurs significativement différentes de 0 à un niveau de signification  $\alpha=0,01$ . ns : non significatif .ns : non significatif

Variabes	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (% m.s.)	Dureté (NIRS)
PS (kg/hl)	0,226*			
Protéines (% m.s.)	-0,333**	ns		
Dureté (NIRS)	0,278*	0,223*	0,262*	
Vitrosité (%)	-0,283**	0,476***	0,674***	0,328**

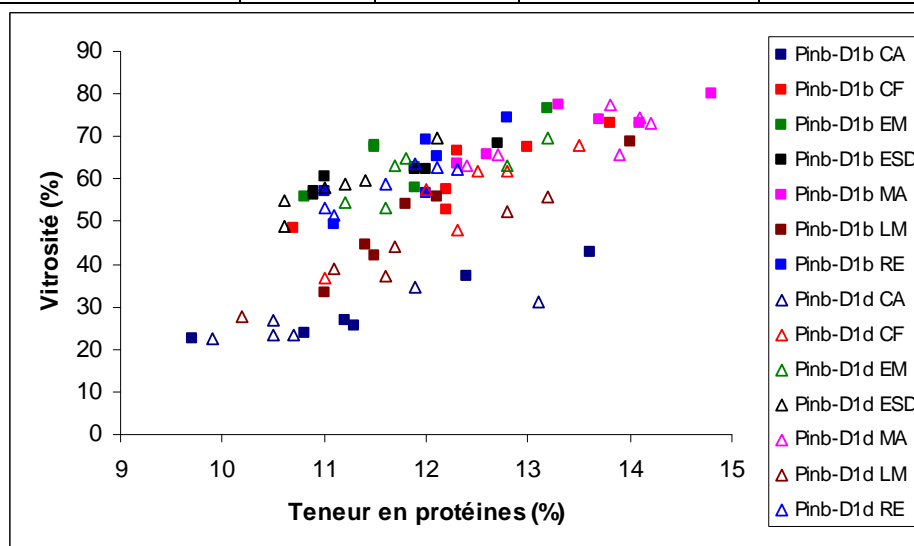


Figure 28: Relation entre vitrosité et teneur en protéines des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008 : Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d

### III Analyse des caractéristiques de la récolte 2009

La récolte 2009 concerne 130 échantillons issus des lignées NILA (26 échantillons), NILB (26 échantillons), NIL1 (26 échantillons), NIL2 (26 échantillons), NIL3 (26 échantillons). Les échantillons des lignées quasi-isogéniques proviennent de 7 lieux de culture (Clermont-Ferrand, Rennes, Estrées-Mons, Le Moulon, Auchy, Froissy, Milly) et 2 niveaux d'apport azoté pour chaque lieu, à l'exception de Auchy où les échantillons du niveau N+ ont été endommagés avant les analyses. La liste des échantillons de cette récolte, ainsi et leurs caractéristiques est présentée en annexe 3.

#### III-1 Variabilité des caractéristiques des échantillons de la récolte 2009

Les coefficients de variation (CV) montrent une bonne variabilité des valeurs de vitrosité (45,5%), de dureté (38,8%), de PMG (9,5%) et teneur en protéines (7,1%) par ordre décroissant (Tableau 9). Mais le CV du PS est faible (2,8%). Comme pour les récoltes 2007 et



2008 les valeurs des moyennes et des médianes sont proches, ce qui traduit de bonnes répartitions des valeurs des caractéristiques autour des moyennes.

Les valeurs de moyennes et de médianes du PMG et du PS sont proches de celles de la récolte 2008. Celles de dureté et de vitrosité sont plus faibles que celles de la récolte 2008, mais plus élevées que celles de la récolte 2007. Celles de la teneur en protéines sont identiques à celles de la récolte 2007.

Les figures 29 et 30 confirment également la texture soft des échantillons caractérisés par la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a (valeurs faibles, comprises entre 4 et 35) et la texture hard des échantillons caractérisés par les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d (valeurs fortes, comprises entre 40 et 87).

La plage de variation de la vitrosité chez les hard des couples hard/soft et chez les couples hard/hard est importante (valeurs comprises entre 4% et 67%) mais les valeurs sont plus faibles que celles de la récolte 2008 (elles ne dépassent pas les 67%). Mais contrairement à la récolte 2008 seuls 3 échantillons présentent des valeurs de vitrosité supérieures à 50% pour les couples hard/soft, tous les autres ayant des valeurs plus faibles (Figure 29). De même pour les couples hard/hard seuls 12 échantillons sur 78 ont des valeurs de vitrosité supérieures à 50% (Figure 30).

Tableau 11: Statistique des caractéristiques des lignées NILA, NILB, NIL1, NIL2, NIL3

Caractéristique	Effectif	Min	Max	Médiane	Moyenne	Ecartype	CV (%)
PMG (g)	130	35,4	56,9	49,9	46,8	4,4	9,5
PS (kg/hl)	130	72,4	83,0	78,4	78,9	2,2	2,8
Dureté (NIRS)	130	4,0	87,0	61,0	60,0	21,2	38,8
Vitrosité (%)	130	4,3	64,5	37,5	28,9	14,2	45,5
Protéines (%)	130	9,5	13,0	12,1	11,4	0,8	7,1

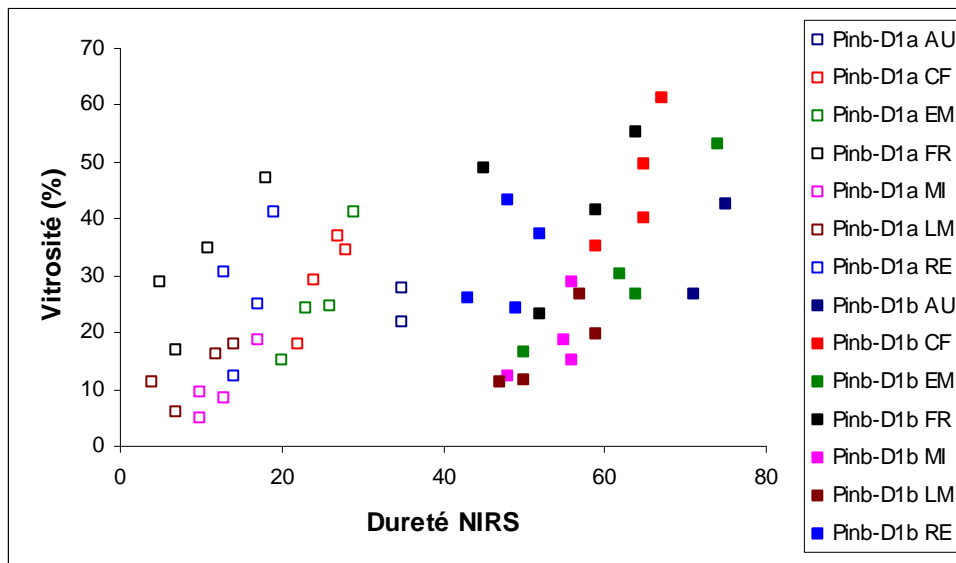


Figure 29: Relation entre la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2009. Les codes lieux sont : AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes. Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b

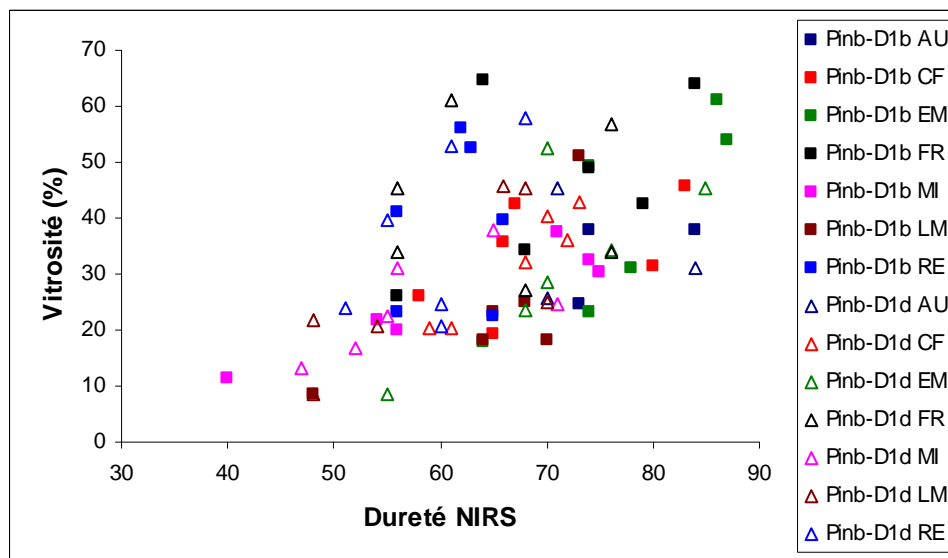


Figure 30: Relation entre la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2009. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes : Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d

## III-2 Influence des facteurs sur les caractéristiques des échantillons de la récolte 2009

### III-2-1 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NILA et NILB.

L'analyse de la variance (Tableau 12) montre que les variations du PMG et du PS sont essentiellement contrôlées par la lignée (NILA > NILB), le lieu de culture et l'interaction lieu\*azote dans l'ordre décroissant.

La variabilité de la dureté est très fortement contrôlée par la combinaison d'allèle de puroindoline comme pour les récoltes 2007 et 2008 (Pina-D1a/Pinb-D1a < Pina-D1a/Pinb-D1b). L'effet majeur de la combinaison d'allèle de Puroindolines sur la dureté était attendu (Giroux and Morris 1997; Giroux and Morris 1998; Lillemo and Morris 2000). Le lieu de culture, le niveau d'azote, et plus faiblement la lignée et l'interaction allèles\*azote sont les autres facteurs qui influent sur la dureté NIRS. Cependant, le lieu de culture et l'azote constituent des sources de variation plus importantes par rapport à la lignée contrairement aux résultats des récoltes 2007 et 2008.

La variabilité de la vitrosité est fortement contrôlée par le niveau d'azote (Figure 31), la lignée, la combinaison d'allèle de Puroindoline (Figure 32) et le lieu de culture (Figure 33) par ordre décroissant. Les interactions lignée\*lieu, lieu\*azote et allèle\*lieu ont également des effets significatifs sur la vitrosité. Ces résultats montrent encore que la vitrosité est contrôlée par des facteurs environnementaux et génétiques.

La variabilité de la teneur en protéines est majoritairement contrôlée par le niveau d'apport azoté. La lignée, l'interaction lieu\*azote, et le lieu de culture sont les autres facteurs qui ont un effet significatif sur la teneur en protéines des grains.

Tableau 12: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2009. Les valeurs sont les carrés moyens. ns : non significatif

Source	DL	PMG	PS	Dureté	Vitrosité	Protéines
Lignée (Q)	1	224,7***	34,8***	183,0**	1200,3***	3,3***
Pinb (P)	1	ns	ns	18870,0***	936,5***	ns
Lieu (L)	6	34,2***	18,5***	488,2***	755,7***	0,3*
Azote (A)	1	ns	ns	290,1***	1848,0***	16,6***
Q*P	1	ns	ns	ns	ns	ns
Q*L	6	ns	ns	ns	62,6**	ns
Q*A	1	ns	5,5*	ns	ns	ns
P*L	6	ns	ns	35,4*	37,4*	ns
P*A	1	ns	ns	ns	ns	ns
L*A	5	10,9***	14,0***	ns	48,3*	0,6**

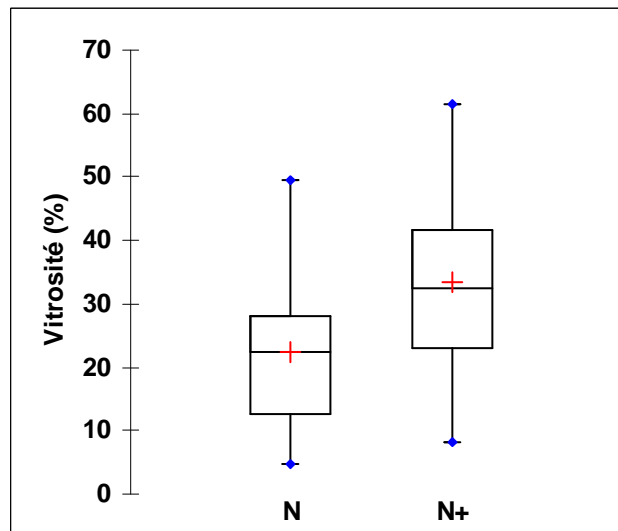


Figure 31: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2009 en fonction du niveau d'azote.

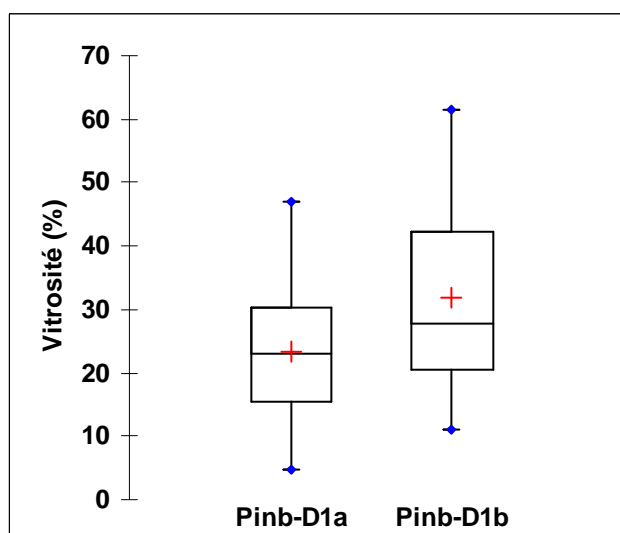


Figure 32: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2009 en fonction de la combinaison d'allèle de Puroindolines : Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b.

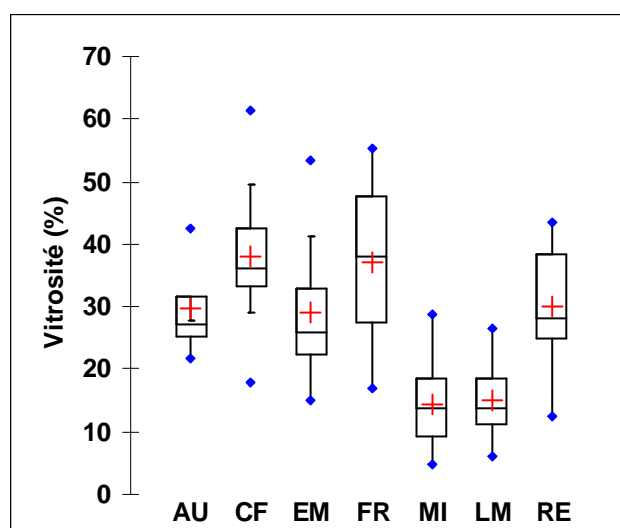


Figure 33: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2009 en fonction du lieu de culture. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes

### III-2-2 Influence des facteurs sur les caractéristiques des lignées NIL1, NIL2, NIL3

L'analyse de la variance (Tableau 13) montre que les variations du PMG et du PS sont essentiellement contrôlées par la lignée et le lieu de culture et l'interaction lieu\*azote dans l'ordre décroissant.

La lignée constitue la plus forte source de variation de la dureté NIRS. Le lieu de culture, l'allèle de Pinb, le niveau d'azote, et plus faiblement l'interaction lignée\*lieu sont les autres facteurs qui influent sur la dureté NIRS.

La variabilité de la vitrosité est fortement contrôlée par le niveau d'azote (Figure 34), la lignée, l'allèle de Pinb (Figure 35) et le lieu de culture (Figure 36) par ordre décroissant. Les interactions lignée\*lieu, lieu\*azote et Pinb\*lieu ont également des effets significatifs sur la vitrosité. Ces résultats confirment ceux des récoltes 2007 et 2008.

La variabilité de la teneur en protéines est majoritairement contrôlée par le niveau d'apport azoté comme pour les récoltes 2007 et 2008. La lignée, l'interaction lieu\*azote, et le lieu de culture et sont les autres facteurs qui ont un effet significatif sur la teneur en protéines des grains.

Tableau 13: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2009. Les valeurs sont les moyennes de carrées. ns : non significatif

Source	DL	PMG	PS	Dureté	Vitrosité	Protéines
Lignée (Q)	2	277,1***	11,9***	1087,8***	1989,8***	1,0***
Pinb (P)	1	ns	ns	313,7**	ns	0,6**
Lieu (L)	6	50,9***	34,0***	447,8***	615,2***	1,9***
Azote (A)	1	10,4**	6,0**	144,5*	3981,1***	26,6***
Q*P	2	8,6**	ns	ns	ns	ns
Q*L	12	4,8***	1,8**	64,2*	94,5***	0,2**
Q*A	2	ns	3,4**	ns	ns	ns
P*L	6	ns	ns	ns	ns	ns
P*A	1	ns	ns	ns	ns	ns
L*A	5	4,9**	14,0***	88,9*	238,2***	1,5***

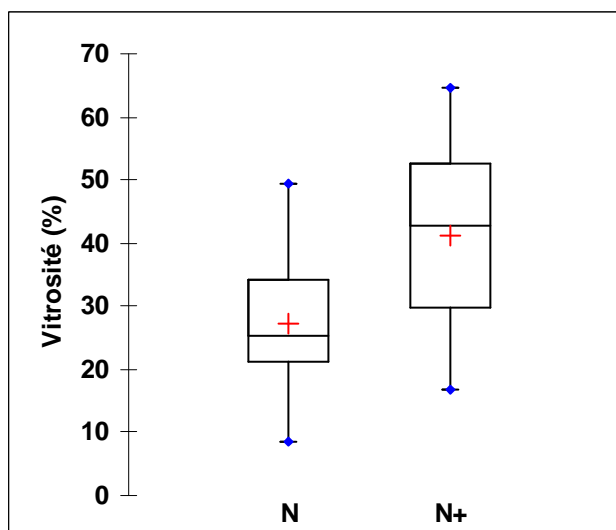


Figure 34: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009 en fonction du niveau d'azote

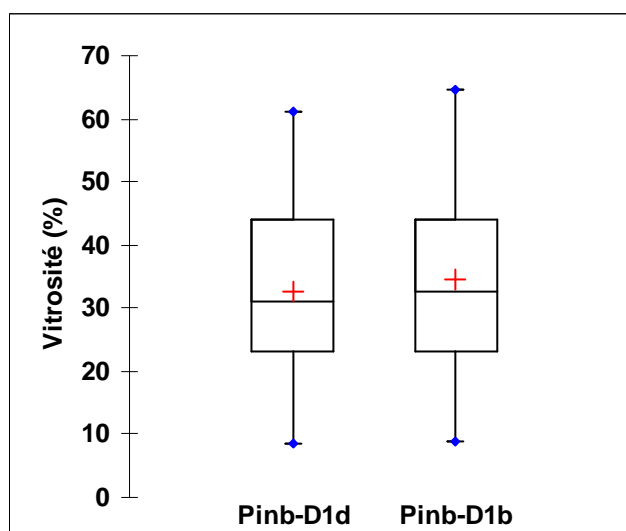


Figure 35: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009 en fonction de la combinaison d'allèles de Puroindolines. Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d.

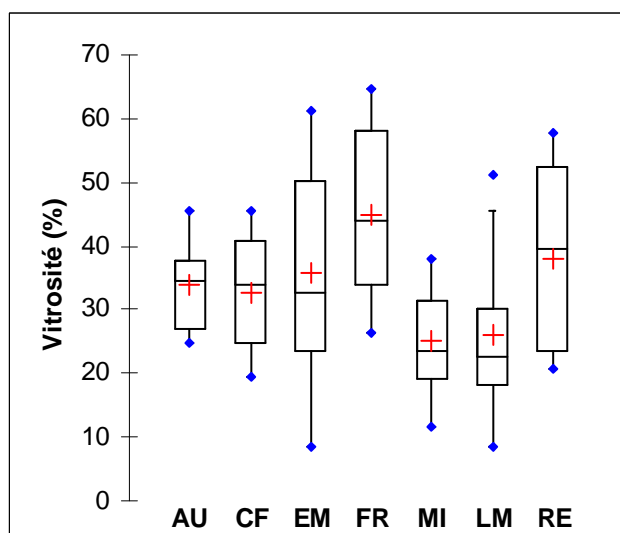


Figure 36: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009 en fonction du lieu de culture. Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes

### III-3 Corrélation entre les caractéristiques des grains

#### III-3-1 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NILA et NILB

Comme pour la récolte 2008, la matrice de corrélation de Pearson montre que, les corrélations Vitrosité – Protéines ( $r=0,556$ ) et Vitrosité – Dureté NIRS ( $r=0,476$ ) sont très hautement significatives, tandis que la corrélation vitrosité PS est hautement significative ( $r=0,417$ ). Ici encore le coefficient de corrélation entre la teneur en protéines et la vitrosité est faible, et la

figure 37 montre que pour une même valeur de vitrosité les échantillons portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a présentent des valeurs de vitrosité plus faibles que ceux portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b. Les corrélations PMG – PS ( $r=0,349$ ) et Protéines – PS ( $r=0,274$ ) sont significatives.

Tableau 14: Coefficients de corrélation ( $r$ ) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2009: les valeurs sont les coefficients de corrélations  $r$ . \*, \*\*, \*\*\* : Valeurs significativement différentes ; ns : non significatif

Variabiles	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (% m.s.)	Dureté (NIRS)
PS (kg/hl)	0,349*			
Protéines (% m.s.)	ns	0,274*		
Dureté (NIRS)	ns	ns	ns	
Vitrosité (%)	ns	0,417**	0,556***	0,476***

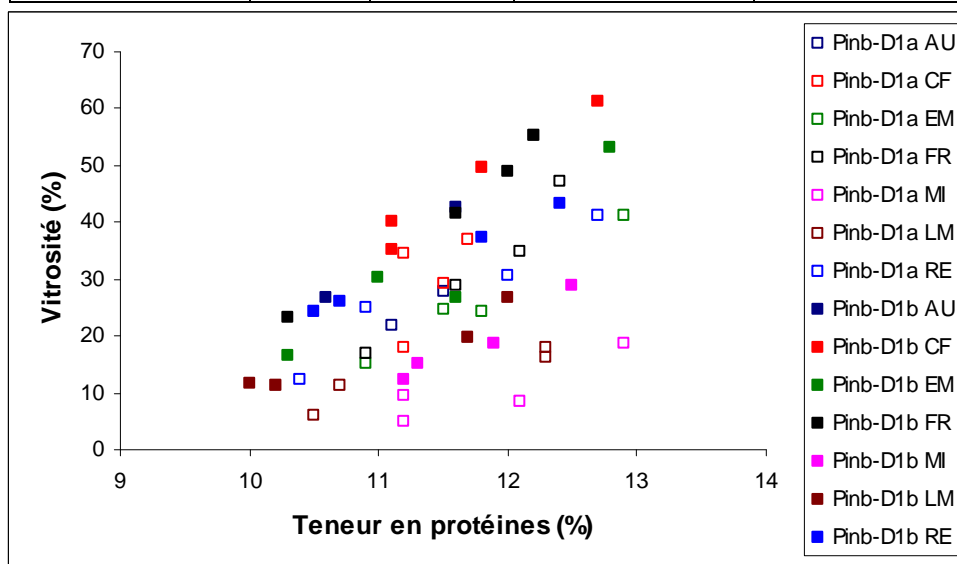


Figure 37: Relation entre Vitrosité et teneur en protéines des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009. Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes

### III-3-2 Corrélation entre les caractéristiques des grains des lignées NIL1, NIL2, NIL3

Le tableau 15 montre que les corrélations vitrosité – PS (0,560), Vitrosité – Protéines (0,533) et Vitrosité - Dureté NIRS (0, 525) sont très hautement significatives. La figure 38 montre encore que pour une même valeur de teneur en protéines on peut observer différentes valeurs de vitrosité. La corrélation dureté NIRS – PS ( $r=0,587$ ) est également significative ( $p<0,001$ ), et les corrélations dureté NIRS – PMG ( $r=0,308$ ) et Dureté NIRS – Protéines ( $r=0,370$ ) sont significatives ( $p<0,01$ ). Les corrélations de la teneur en protéines avec le PMG ( $r=0,371$ ) et le



PS ( $r=0,397$ ) sont significatives ( $P<0,001$ ). Enfin la corrélation PMG – PS ( $r=0,337$ ) est significative ( $p<0,01$ ).

Tableau 15: Coefficients de corrélation ( $r$ ) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2009: les valeurs sont les coefficients de corrélations  $r$ . \* ; \*\* ; \*\*\* : Valeurs significativement différentes de 0 aux niveaux de probabilités respectifs de 5% ; 1% ; 0,1% ; ns : non significatif

Variables	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (% m.s.)	Dureté (NIRS)
PS (kg/hl)	0,337**			
Protéines (% m.s.)	0,371***	0,397***		
Dureté (NIRS)	0,308**	0,587***	0,370**	
Vitrosité (%)	ns	0,563****	0,533***	0,525***

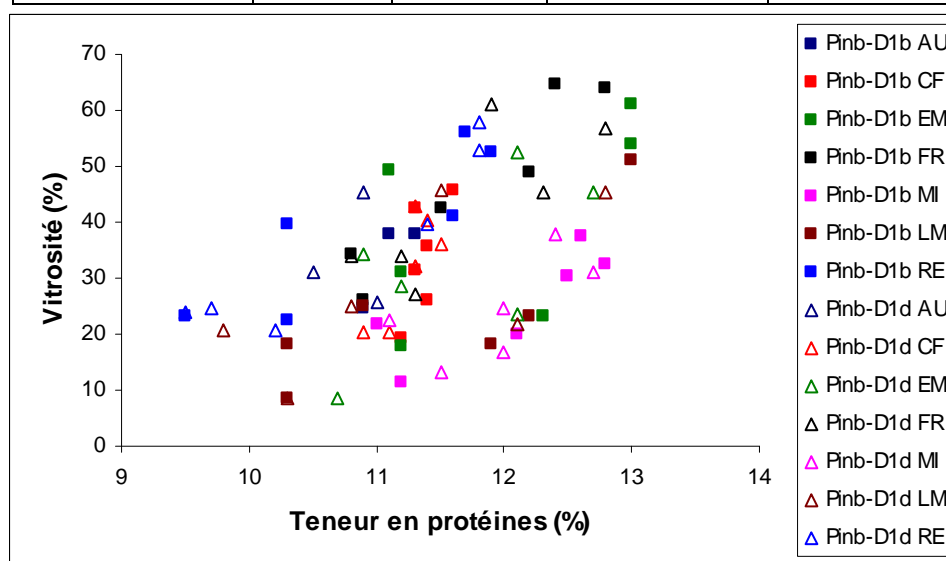


Figure 38: Relation entre vitrosité et teneur en protéines des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009. Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes

#### IV Analyse des caractéristiques des grains sur l'ensemble des données des 3 années de récolte.

Dans cette partie les analyses de variance ont été faites sur les données des échantillons provenant de tous les lieux de culture, et de toutes les années de récolte. Il s'agit au total de 14 lieux de culture sur 3 années de récolte (2007, 2008, 2009) pour les lignées NILA et NILB, et de 11 lieux de culture sur 2 années de récolte pour les lignées NIL1, NIL2, NIL3. Le modèle linéaire mixte a été utilisé pour l'analyse de variance. Les facteurs Lignée, allèles et Azote ont été considérés comme facteurs fixes tandis que l'année de récolte et le lieu de culture ont été considérés comme facteurs variables.

IV-1 Analyse des caractéristiques des grains des lignées NILA et NILB sur les données des échantillons des 14 lieux de culture sur les 3 années de récolte (2007- 2008 - 2009)

Cette analyse confirme l'effet très hautement significatif de la combinaison d'allèles de Puroindoline sur la dureté NIRS et la vitrosité (Tableau 16). Elle montre aussi un effet significatif de la combinaison d'allèle de Puroindolines sur la PMG, avec une valeur moyenne plus élevée pour la combinaison Pinb-D1a/Pinb-D1a (42,3g) par rapport à la combinaison Pinb-D1b/Pinb-D1b (41,5g). Elle montre aussi que les lignées NILA et NILB se distinguent définitivement par leurs valeurs de PMG, de PS, de dureté NIRS et de teneurs en protéines. En effet, les échantillons de la lignée NILA présentent des valeurs plus élevées de ces caractéristiques NILB (Tableau 17). Enfin, comme souhaité, le niveau d'azote a un effet très hautement significatif sur la teneur en protéines et sur la vitrosité par l'accroissement de leurs valeurs respectives.

Tableau 16: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB sur 3 années de récolte et 3 lieux communs. Les valeurs sont des carrés moyens. \*, \*\*, \*\*\* : significatif aux niveaux de probabilité respectifs de 5% ; 1%, 0,1%. Ns : non significatif

Source	DL	PMG	PS	Dureté	Vitrosité	Protéines
Année	2	198,7***	202,2***	1031,5***	3335,0***	6,3***
Lignée	1	846,8***	43,9***	1652,1***	638,7***	6,7***
Pinb	1	21,9*	ns	55952,2***	3963,0***	ns
Lieu	13	45,5***	20,8***	340,2***	1128,8***	1,3***
Azote	1	ns	ns	96,7*	1576,1***	34,9***
Année*Lignée	2	ns	13,1***	129,0**	169,5**	ns
Année*Pinb	2	ns	ns	73,6*	326,4***	ns
Année*Lieu	5	77,2***	40,9***	148,2***	1202,1***	3,0***
Année*Azote	2	ns	ns	64,7*	132,7**	0,5*
Lignée*Pinb	1	ns	ns	328,2***	ns	ns
Lignée*Lieu	13	ns	3,6***	ns	ns	ns
Lignée*Azote	1	ns	ns	ns	ns	ns
Pinb*Lieu	13	ns	ns	43,8**2	93,5***	ns
Pinb*Azote	1	ns	ns	ns	91,0*	0,7*
Lieu*Azote	12	6,9*	4,3***	ns	ns	0,5**

Tableau 17: Comparaison des caractéristiques des lignées NILA et NILB. Test de Tukey, Intervalle de confiance à 95%. A, b : groupe homogènes.

Lignée	PMG (g)	PS (kg/hl)	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Protéines (%m.s.)
NILA	44,5 b	79,3 b	45,0 b	37,6 a	12,1 b
NILB	39,5 a	78,2 a	38,0 a	33,1 a	11,6 a

## IV-2 Analyse des caractéristiques des grains des lignées NIL1, NIL2, NIL3 sur les données des échantillons des 11 lieux de culture sur les 2 années de récolte (2008 - 2009)

Cette analyse montre que les 3 lignées se distinguent par leurs valeurs de PMG, et de vitrosité et de teneur en protéines. Le classement de leurs valeurs de PMG est NIL1<NIL2<NIL3, celui du PS NIL2≈NIL1<NIL3; celui de la vitrosité est NIL2<NIL3<NIL1 et celui des teneur en protéines est NIL2<NIL3<NIL1 ; celui de la dureté NIRS NIL2<NIL1<NIL3 (Tableau 19). Les combinaisons d'allèles de Puroindolines se distinguent par leurs valeurs de dureté NIRS avec des valeurs plus élevées pour la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b. L'effet du niveau d'azote est très hautement significatif sur la teneur en protéines et sur la vitrosité.

Tableau 18: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3. Les valeurs sont les carrés moyens. \* ; \*\* ; \*\*\* : significatif aux niveaux de probabilité respectifs de 0,05 ; 0,01 ; 0,001. ns : non significatif

Source	DL	PMG	PS	Dureté	Vitrosité	Protéines
Année	1	39,7***	131,5***	2369,0***	11379,6***	9,0***
Lignée	2	371,5***	10,7***	1055,9***	2423,5***	6,4***
Pinb	1	ns	ns	1111,8***	205,9**	1,1**
Lieu	10	45,5***	31,1***	317,2***	1760,7***	4,8***
Azote	1	10,9*	7,4**	581,9***	3717,2***	33,0***
Année*Lignée	2	ns	5,8**	ns	213,5***	1,6***
Année*Pinb	1	ns	ns	ns	ns	ns
Année*Lieu	2	34,8***	48,6***	239,597	ns	1,5***
Année*Azote	1	ns	ns	ns	170,0*	ns
Lignée*Pinb	2	ns	ns	ns	Ns	ns
Lignée*Lieu	20	9,2***	1,3*	78,0**	68,0**	0,5***
Lignée*Azote	2	ns	2,3*	ns	ns	0,5*
PinB*Lieu	10	ns	ns	ns	ns	ns
PinB*Azote	1	ns	ns	ns	ns	ns
Lieu*Azote	9	ns	5,3***	197,4***	111,6***	0,7***

Tableau 19: Comparaison des caractéristiques des lignées NIL1, NIL2, NIL3. Test de Tukey, Intervalle de confiance à 95%. A, b, c : groupe homogènes.

Lignée	PMG (g)	PS (kg/hl)	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Protéines (%m.s.)
NIL1	45,3 a	80,0 a	71,9 b	50,7 c	12,1 c
NIL2	47,1 b	79,7 a	68,4 a	36,7 a	11,4 a
NIL3	51,1 c	80,6 b	77,5 c	47,3 b	11,8 b

## V Discussion

Le choix de l'utilisation de lignées quasi-isogéniques, et de ce dispositif expérimental avait pour premier objectif d'obtenir une grande variabilité de la dureté NIRS et de la vitrosité. Les

résultats présentés montrent effectivement une grande variabilité de ces deux caractéristiques, ainsi qu'une variabilité de la teneur en protéines, le PMG et le PS.

### Variabilité de la dureté NIRS

Pour les échantillons des lignées NILA et NILB, les facteurs influant sur la dureté NIRS peuvent être classés comme suit dans l'ordre décroissant : combinaison d'allèle de Puroindoline > Lignée > année de récolte > Lieu de culture. La combinaison d'allèle de Puroindoline et la lignée, qui sont des facteurs génétiques, constituent donc les plus grandes sources de variation de la dureté NIRS pour ces lignées. L'année de récolte et le lieu de culture sont des facteurs environnementaux, qui contribuent à la variabilité de la dureté NIRS, mais l'effet de l'année de récolte est supérieur à celui du lieu de culture. Le niveau d'azote n'a pas d'effet significatif. La dureté NIRS semble donc contrôlée plus fortement par les facteurs génétiques par rapport aux facteurs environnementaux.

Pour les échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3, les facteurs influant sur la dureté NIRS peuvent être classés comme suit : Année de récolte > allèle de Puroindoline > Lignée > Lieu de culture > Azote. Pour ces lignées, l'effet de l'année de récolte est supérieur à ceux des autres facteurs, y compris les facteurs génétiques (Lignée et combinaison d'allèle de Puroindoline). Parmi les facteurs génétiques, l'effet de la combinaison d'allèle de puroindoline est supérieur à celui de la lignée. Mais les effets de ces deux facteurs sont supérieurs à ceux du lieu de culture et du niveau d'azote. Pour ces lignées l'effet du niveau d'azote sur la dureté NIRS est significatif.

### Variabilité de la vitrosité

Pour les échantillons des lignées NILA et NILB, le classement des facteurs est le suivant: Allèles de Puroindoline > Année de récolte > Niveau d'azote > lieu de culture > Lignée. Tout comme pour la dureté NIRS, la combinaison d'allèle de puroindoline est la plus grande source de variation de la vitrosité des lignées NILA et NILB. Mais les effets des facteurs environnementaux sont supérieurs à l'effet de la lignée. Parmi les facteurs environnementaux, l'année de récolte constitue la plus grande source de variation de la vitrosité, et le lieu de culture est la plus faible.

Pour les échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3, le classement des facteurs est le suivant : Année de récolte > Niveau d'azote > Lignée > Lieu de culture > allèle de

Puroindoline. Les effets des facteurs environnementaux semblent donc supérieurs à ceux des facteurs génétiques. L'année de récolte est la plus grande source de variation parmi les facteurs environnementaux, suivi par le niveau d'azote. La lignée constitue la plus grande source de variation parmi les facteurs génétiques.

### Variabilité de la teneur en protéines

Pour les échantillons des lignées NILA et NILB le classement des facteurs est le suivant : Niveau d'azote > Lieu de culture > Année de récolte > Lignée. Les facteurs environnementaux constituent les plus grandes sources de variation de la teneur en protéines. Parmi ces facteurs l'effet du niveau d'azote est le plus élevé tandis que l'effet de l'année est le plus faible. Pour les facteurs génétiques, seul l'effet de la lignée est significatif.

Pour les échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3, le classement des facteurs est le suivant : Niveau d'azote > Année de récolte > Lignée > Lieu de culture. Le niveau d'azote est encore la plus grande source de variation de la teneur en protéines, suivi par l'année de récolte. Ici l'effet de la lignée est supérieur à celui de lieu de culture. La combinaison d'allèle de puroindoline n'a pas d'effet significatif.

### Variabilité du PMG

Pour les échantillons des lignées NILA et NILB, le classement est le suivant: Lignée > Année de récolte > Lieu de culture > combinaison d'allèle de puroindoline. La lignée constitue la plus grande source de variation, suivi par les facteurs environnementaux, puis par l'allèle de puroindoline en dernier. Parmi les facteurs environnementaux l'effet de l'année de récolte le plus élevé, mais celui du niveau d'azote n'est pas significatif. Par contre c'est la première fois que l'effet significatif de l'allèle de Puroindoline sur le PMG est mentionné.

Pour les échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 le classement est le suivant : Lignée > Lieu de récolte > Année de culture. Ici également la lignée constitue la plus grande source de variation, suivie par les facteurs environnementaux. Mais dans ce cas, l'allèle de Puroindoline n'a pas d'effet significatif.

### Variabilité du PS

Pour les échantillons des lignées NILA et NILB, et pour ceux des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 le classement des facteurs est le même: Année de récolte > Lieu de culture > Lignée. Les facteurs environnementaux sont les plus grandes sources de variations du PS. L'effet de

l'année de récolte est plus élevée que celui du lieu de culture. L'effet de la combinaison d'allèle de puroindoline n'est pas significatif.

### Classement des sources de variations par niveaux d'effet sur les caractéristiques

Le classement des facteurs par leurs niveaux d'influence sur les caractéristiques dépend des combinaisons d'allèles de puroindolines présentes dans les lignées étudiées. Les effets des combinaisons d'allèles de puroindolines sont significatifs pour les caractéristiques de la texture des grains (dureté et vitrosité), et plus importants pour les lignées NILA et NILB qui portent les allèles sauvages et mutés de puroindolines alors que les lignées NIL1, NIL2 et NIL3 portent des allèles mutés de puroindolines de type différents.

Les effets des lignées sont significatifs pour toutes les caractéristiques. L'effet du facteur lignée sur la variabilité des caractéristiques des grains est dû aux différences de fond génétiques entre les lignées. L'effet de la lignée a été montré dans de nombreuses études (Souza et al. 2004; Zhang et al. 2004).

Parmi les facteurs environnementaux, l'année de récolte constitue la plus grande source de variation des caractéristiques. L'année 2007 présente les plus faibles valeurs de PMG, PS, Dureté, Vitrosité et les plus fortes valeurs de teneur en protéines. À l'inverse l'année 2008 présente les plus fortes valeurs de PMG, PS, Dureté, Vitrosité et les plus faibles valeurs de teneur en protéines. L'année 2009 présente des valeurs intermédiaires aux deux autres années. L'effet de l'année de récolte sur les caractéristiques des grains, qui correspond aux variations des conditions climatiques d'une année à une autre, avait été mentionné dans plusieurs travaux (Bhullar and Jenner 1985; Campbell and Davidson 1979; Craven et al. 2007; Daniel and Triboi 2002; Finlay et al. 2007; Jarvis et al. 2008; Jenner 1994; Preston et al. 1991; Sofield et al. 1977; Terman 1979).

L'effet du lieu de culture est similaire à celui de l'année de récolte car il se traduit également par les variations des conditions climatiques (température, humidité, vitesse du vent, luminosité) et par la nature du sol. Plusieurs études ont montré l'effet significatif du lieu de culture sur les caractéristiques des grains (Souza et al. 2004; Zhang et al. 2004; Zhang et al. 2005). Dans notre étude l'effet du lieu de culture est plus faible par rapport à celui de l'année de récolte. L'effet du niveau d'azote est significatif sur la teneur en protéines conformément aux travaux antérieurs (Otterson et al. 2008) et sur la vitrosité.

## Corrélations entre les caractéristiques

Tous les résultats ont montré des corrélations significatives et positives entre la vitrosité et la dureté NIRS, ce qui confirme que ces 2 caractéristiques de la texture du grain sont liées. Cependant les valeurs de coefficient de corrélation sont relativement faibles ( $r < 0,600$ ), traduisant le fait que ces caractéristiques ne doivent pas être confondues. Tous les résultats ont également montré des corrélations significatives et positives entre la vitrosité et la teneur en protéines, confirmant aussi le lien entre ces 2 caractéristiques. Ce lien avait permis de suggérer que la vitrosité serait liée au remplissage des grains par les protéines. Mais les coefficients de corrélation observés sont relativement faibles ( $r < 0,700$ ). En plus, pour une même teneur en protéines on observe une large variabilité des valeurs de vitrosité (allant de 20% à 70% par exemple). Cela montre que la vitrosité ne dépend pas uniquement de la teneur en protéines des grains. Par ailleurs, nous n'avons pas observé comme souligné chez le blé dur de seuil e teneur en protéines où les échantillons deviennent vitreux. En effet les travaux de Samson et al, (2005) ont montré que chez le blé dur, environ 90% des échantillons vitreux (vitrosité  $> 50\%$ ) avaient des teneurs en protéines supérieures à 9,7%.

Il est aussi important de noter que la récolte 2008 qui présente la plus faible valeur moyenne de teneur en protéines, est aussi celle où les grains observés ont les plus fortes valeurs de vitrosité. Cela est contraire à la corrélation entre la teneur en protéines et la vitrosité, et indique que d'autres facteurs sont impliqués dans l'expression de la vitrosité du grain. Les corrélations Dureté NIRS – Teneurs en protéines n'étant pas toujours significatives, le lien entre ces caractéristiques est sans doute faible voire inexistant.

## Conclusion

- 1- Le dispositif expérimental nous a permis d'obtenir une grande variabilité des caractéristiques des grains entre les 3 années de récolte et les différents lieux de culture. En particulier la récolte 2007 est caractérisée par de faibles valeurs de toutes les caractéristiques sauf la teneur en protéines dont les valeurs sont plus fortes. A l'inverse la récolte 2008 est caractérisée par de fortes valeurs de toutes les caractéristiques des grains sauf la teneur en protéines
- 2- Comme attendu, les échantillons portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ont montré une texture soft tandis que ceux portant les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d avaient une texture hard.

- 3- Comme souhaité, le niveau N<sup>+</sup> d'apport azote a entraîné une hausse des valeurs de teneur en protéines et de vitrosité.
- 4- Les corrélations significatives mais faibles ont été montrées entre Dureté – Vitrosité, et entre Teneur en Protéines – Vitrosité. Contrairement à ce qui a été observé chez le blé dur (Samson et al. 2005) il ne semble pas exister de seuil de teneur en protéines pour observer des vitrosités élevées.
- 5- Pour toutes les lignées étudiées, la combinaison d'allèle de Puroindolines semble avoir une influence sur les valeurs de dureté et de vitrosité comme suit : Pina-D1a/Pinb-D1a < Pina-D1a/Pinb-D1d < Pina-D1a/Pinb-D1b.
- 6- Une relation entre la présence des allèles sauvages ou muté de puroindoline-b et la vitrosité est mise en évidence pour la première fois.



## **Chapitre II : Etude des effets des facteurs génétiques et agronomiques sur l'aptitude à la réduction de l'albumen**

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les effets de la dureté et de la vitrosité sur l'aptitude à la réduction de l'albumen du grain à partir des deux types de lignée mises à disposition. Ce chapitre comporte donc deux parties en fonction du type de lignée étudié.

Dans la première partie l'étude a été réalisée à l'aide d'un sous ensemble des échantillons des 3 lignées quasi-Isogéniques pour la dureté de type hard portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d, afin de pouvoir comparer les effets de ces allèles sur l'aptitude à la réduction de l'albumen. Les échantillons analysés ici proviennent de 4 lieux de culture (Cappelle, Maule, Clermont-Ferrand, Orgeval) de la récolte 2008. Le choix de la récolte 2008 dans cette étude s'explique par la grande variation observée pour les valeurs des échantillons de cette récolte, ce qui permet de mieux évaluer l'impacte de la vitrosité sur les paramètres à étudier.

Dans la deuxième partie l'étude a été réalisée à l'aide d'une sous ensemble des échantillons des 2 lignées quasi-isogéniques pour la dureté de types hard/soft portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (soft) et Pina-D1a/Pinb-D1b (hard). Les échantillons analysés ici proviennent, des 3 lieux communs (Clermont-Ferrand, Rennes, Estrées-Mons) des récoltes 2007 et 2008.

Par ailleurs, en plus de la dureté NIRS et de la vitrosité, les valeurs de dureté SKCS ont été déterminées pour les échantillons étudiés dans ce chapitre. Ceci permet d'évaluer et de comparer les effets des différentes méthodes de description de la texture (dureté NIRS, dureté SKCS, vitrosité) sur l'aptitude à la réduction de l'albumen.

## **Partie 1 : Etude des effets des facteurs génétiques et agronomiques sur l'aptitude à la réduction de l'albumen pour les lignées portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1b (NIL1, NIL2 et NIL3)**

La première partie de ce chapitre a fait l'objet d'une publication scientifique qui a été soumise en Mai 2011 à Cereal Chemistry.

Dans cette partie, les effets des combinaisons d'allèles de Pina-D1a/Pinb-D1b, Pina-D1a/Pinb-D1d, de la dureté NIRS, de la dureté SKCS et de la vitrosité sur l'aptitude à la réduction de l'albumen ont été étudiés grâce aux échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 issus de 4 lieux de culture de la récolte 2008.

### Résumé de la partie 1

Les différences de comportement en mouture entre les cultivars de blé tendre de type hard sont bien connues par les meuniers. Parmi ces derniers, le cultivar Soissons d'origine française qui porte la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1d, se distingue particulièrement pour sa forte valeur meunière. Des lignées quasi-isogéniques qui diffèrent par les allèles de Pinb ont été construites pour étudier le rôle de l'allèle Pinb-D1d par rapport à celui de l'allèle Pinb-D1b (l'un des allèles les plus fréquemment retrouvés dans les variétés de blé d'Europe). Les caractéristiques des grains obtenues après culture dans différentes conditions environnementales ont été comparées parmi les lignées quasi-isogéniques pour la dureté et le cultivar Soissons, ainsi que leur comportement au fractionnement. Les résultats ont montré que les lignées quasi-isogéniques portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d présentaient de plus faibles valeurs de dureté et de vitrosité par rapport à leurs correspondants portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b dans les mêmes conditions de culture. Le fond génétique et les conditions environnementales ont montré des effets significatifs sur la texture des grains. Les valeurs de la dureté SKCS étaient corrélées aux valeurs de la vitrosité. L'étude du comportement en mouture des échantillons a montré que la vitrosité était négativement corrélée à l'aptitude à la réduction de l'albumen ( $R^2=0,8$ ), quelque soit le fond génétique. L'étude a montré également que l'albumen des échantillons du cultivar Soissons se réduisait plus facilement en farine par rapport aux ceux des lignées quasi-isogéniques, même pour des valeurs similaires de vitrosité.

## **Partie 1: A study of puroindoline b involvement in the milling behavior of hard type common wheats**

Accepted, Cereal Chemistry, 2011-09-28

P. Lasme<sup>1,4</sup>, F.-X. Oury<sup>2</sup>, C. Michelet<sup>3</sup>, J. Abecassis<sup>1</sup>, F. Mabillet<sup>1</sup>, C. Bar L'Helgouac'h<sup>4</sup>, V. Lullien-Pellerin<sup>1</sup>

1. UMR 1208, Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, INRA, 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex 01, France

2. INRA, UMR 1095 Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales, 234 avenue du Brézet, 63039 Clermont-Ferrand, Cedex 2, France

3. UFS, 17 rue du Louvre, 75001 Paris, France

4. ARVALIS-Institut du végétal, Station Expérimentale, 91720 Boigneville, France

Corresponding author: Lullien-Pellerin V., UMR Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, INRA-ENSAM, 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex 01. Tél : 33 (0)4 99 61 31 05, Fax : 33 (0)4 99 61 30 76, e-mail : lullien@supagro.inra.fr.

### List of Abbreviations

cv., cultivar

DArT, Diversity Array Technology

EBA, Endosperm Breakage Ability

HI, Hardness Index

FAR, Farina NIL, Near-Isogenic Line

NIRS, Near Infrared Spectroscopy

PSI, Particle Size Index

SKCS, Single Kernel Characterization System

TFY, Total Flour Yield

TW, Test Weight

TKW, Thousand Kernel Weight

Keywords

Hardness, near-isogenic lines, vitreousness, endosperm reduction, environmental conditions

## ABSTRACT

Differences in the milling behavior among hard type common wheat (*T. aestivum*) cultivars are well known by the millers. Among them, the French Soissons cultivar which contains the Pinb-D1d allelic form of puroindoline b gene is particularly distinguished for its high ability to produce flours. Near-isogenic lines differing by the allelic forms of puroindoline b gene, Pinb-D1d or Pinb-D1b (one of the most frequent alleles found in the European wheat population), were constructed. Grain characteristics obtained after wheat cultivation in distinct environmental conditions were compared between near-isogenic lines and Soissons, as well as their fractionation behavior. Results pointed out that near-isogenic lines containing the Pinb-D1d allele displayed lower values of grain hardness and vitreousness than the corresponding lines, containing the Pinb-D1b allelic form, in the same cultivation conditions. Both the genetic background and the environmental conditions appeared to affect the grain texture. Measured SKCS hardness index values of the samples under study were found to be correlated with the vitreousness values. Studies of the milling behavior helped to point out that grain vitreousness is an important factor acting on endosperm breakage ability whatever the genetic background of the wheat. Our results also highlighted the greatest ability for size reduction of the endosperm from Soissons grains even if they displayed a similar vitreousness level.

## Introduction

Hardness and vitreousness are both characteristics of the endosperm from common wheat grains that are recognized to affect their mechanical properties (Haddad et al 1999, 2001) and thus to play a role in the grain milling behavior (Greffeuille et al 2006, 2007). Indeed, mechanical properties of the endosperm are known to affect the flour particle size distribution, the degree of starch damage and the water absorption capacity of flours.

A number of methods have been developed in order to evaluate the mechanical resistance of the endosperm (Turnbull and Rahman 2002). These methods are either based on the size of the particles after grinding (i.e. particle size index (PSI)) or more related to the required crushing force to break the grains as determined with Single Kernel Characterization System (SKCS) developed by Martin et al (1993). PSI is a direct measurement of the percentage of particles under a specific size (75  $\mu\text{m}$ ) which can be generated after grain grinding and is used to classify wheats in the two classes soft or hard depending on the obtained PSI values (Williams and Sobering 1986). Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is often used instead of PSI (Saurer 1978) to classify wheats based on the distinct scattering at specific wavelengths of ground grains which differ by hardness and is calibrated with grains distinguished by PSI. However, SKCS allows to classify wheats according to the required force for grain breaking and defines four ranges based on the kernel texture characteristics (Gaines et al 1996). A hardness index (HI) is calculated to express the average crushing resistance of the grain sample.

The endosperm hardness is found to be mainly genetically controlled by the Hardness (Ha) locus on the short arm of Chromosome 5D (Chantret et al 2005) and particularly linked to the expression of wild-type or variant allelic forms of two genes encoding specific proteins called puroindolines A and B (PinA and PinB) which are found to be located at the starch granule and protein network interface (Feiz et al 2009). If it is recognized that these proteins are mainly found in the starchy endosperm (Wiley et al, 2007), some authors have also found one of them (PinB) in the aleurone layer (Caparelli et al 2005; Dubreil et al 1998). However,

Lesage et al (2011) studying their expression during grain development confirmed their endosperm location. Indeed expression of the wild alleles of these genes (Pina-D1a, Pinb-D1a) leads to a soft mechanical behavior of the grain endosperm whereas absence or mutations in one of the genes results in a hard phenotype (Giroux and Morris 1998; Lillemo and Morris 2000; Beecher et al 2002; Wanjugi et al 2007). Several possible mutations in the puroindoline genes have been identified and recently reviewed by Morris and Bhave (2008a). But the most frequent in Europe corresponds to a point mutation within the gene encoding PinB (Pinb-D1b) resulting to a Gly to Ser substitution in position 46 of the corresponding protein sequence (Huang and Röder 2005; Lillemo and Morris 2000). Nevertheless other QTL for hardness have also been pointed out as reviewed in Turnbull and Rahman (2002) and Bhave and Morris (2008). It is also recognized that some variation of the hardness level and thus of the milling performance could be due to environmental factors. Indeed temperature and light intensity during grain filling and the rate of grain drying (Parish and Halse 1968) were pointed out to affect other characteristics of the endosperm texture known as vitreousness. These differences in vitreousness could be determined visually by the level of translucence or using new developed methods, i.e. a machine vision (Symons et al 2003) or dual energy X-ray imaging (Neethirajan et al 2007), as demonstrated with durum wheats.

Relationships between the Ha locus and vitreousness have been suggested previously (Nelson et al 1995) but were not confirmed by other authors (Weightman et al 2008).

If a number of mutations in puroindoline genes were found to affect the milling behavior as well as the flour properties (Chen et al 2007; Greffeuille et al 2006; Hogg et al 2005; Ma et al 2009; Martin et al 2001), none of them examined the respective contribution of the genetic versus the environmental factors on wheat grain fractionation behavior.

In this paper, near-isogenic lines (NILs) containing either the most frequent allele of puroindoline b gene in cultivated French wheats, Pin-b-D1b, (found for example in Caphorn

cultivar (cv.)), or containing the type d allele of puroindoline b gene, Pin-b-D1d, (found in Soissons cv. which is well known for its high flour producing level), were grown in different environments in order to study the respective effect of puroindoline genotype, site and nitrogen fertilization on the endosperm ability for size reduction in relation to the endosperm texture.



## Materials and Methods

### Wheat material and field conditions

Three couples of near-isogenic lines (NIL1 to NIL3) produced by UFS (Fr.) and differing by the allelic forms (b or d) of Pinb-D1 gene were used in this study. The near-isogenic lines (NILs) were obtained from two different crosses and after selection of the two allelic forms at the :F6:F7 step (F7 siblings drawn from the same F6 parent plant). Genetic similarity within NILs was confirmed using diversity array technology (DArT) markers (Akbari et al 2006) generated by Triticarte Pty.Ltd ([www.triticarte.com.au](http://www.triticarte.com.au)).

The wheat cultivar Soissons was used as a reference sample. All the genotypes were grown in France in four different locations: Cappelle (50°29' N/3°10' E), Clermont-Ferrand (45°47' N/3°8' E), Maule (48°54' N/1°51' E) and Orgeval (48°55' N/1°58' E) and harvested in summer 2008. In each location, two types of nitrogen fertilization were used, the first one (N condition) corresponded to intensive farming with nitrogen fertilization around 300kg/ha adjusted to high yield objectives (around 9t/ha depending on the location), and taking into account the residual nitrogen remaining in soil at early spring. In the second one (N+ condition), an additional nitrogen dose (50 kg/ha) was added at flowering.

Grains from these different samples (48 samples from near-isogenic lines and 8 samples from Soissons) were collected and cleaned to remove broken kernels or impurities and stored at 4°C before milling.

### Measurement of physical and biochemical characteristics of the grain

Test weight (TW) and thousand-kernel weight (TKW) were measured according to the AACC Method 55-10 (AACC, 2000) and the ISO method NF V03 702 (1981), respectively. NIRS Hardness was evaluated using a Percon NIRS apparatus (AACC method 39-70A, AACC 2000)

Grain vitreousness was assessed by analysis of kernel cross sections obtained using a Pohl grain cutter (Versuchs and Lehranstalt, Brauerei, Berlin, Germany). Depending on the percentage of vitreous surface in the analyzed grains, they were classed into 5 groups (i.e. grains which displayed around 0% of vitreousness were classed in the first group, those with around 25% of vitreousness constituted the second group, those with around 50% were classed in the third group, those with around 75% were classed in the fourth group and those displaying around 100% of vitreousness were added to the fifth group). The number of grains in each class ( $N_i$ , number of grains in class  $i$  for example) was multiplied by the factor of vitreousness in the considered class and the percentage of vitreousness was calculated as the mean of these values out of 500 grains using the following equation:

$$\text{Percentage of vitreousness in the grain sample} = (N_1*0 + N_2*0.25 + N_3*0.50 + N_4*0.75 + N_5*1)/(N_1+N_2+N_3+N_4+N_5).$$

A Perten single-kernel characterization system (SKCS) 4100 (Perten Instruments North America INC, Springfield, IL) was used to collect data on 100 kernels and to calculate a mean hardness index (HI) using AACC method 55-31 (AACC 2000). This method also allows to determine grain weight which was found to be highly correlated with thousand kernel weight measured using the ISO method ( $r= 0.84$ ).

Grain moisture and grain protein content were determined according to AACC methods 44-16 and 39-35, respectively (AACC 2000).

### Milling behavior characterization

Five hundred grams of cleaned grains were tempered to 16 % moisture and milled after 24 h at room temperature using a Chopin patented prototype (French Patent N° 0905572, 02/20/2009) developed in order to evaluate the wheat milling value. This milling device is equipped with two break rolls, one sizing and one reduction roll. This milling process thus

allows to produce two break flours, one sizing and one reduction (in two steps) flours as well as a coarse bran, a fine bran and a short fraction. Sieves of 200  $\mu\text{m}$  mesh were used to isolate the break and sizing flours whereas a 160  $\mu\text{m}$  mesh was used to isolate the reduction flour. Each collected fraction was weighed at each step and expressed either as a percentage of the total grain weight or percentage of the charged product weight at each step. Incomplete milling was also undertaken to analyze more specifically behavior of the inner endosperm part. In this case, coarse endosperm particles, also named farina as defined in International Association of Cereal Science and Technology ICC dictionary (<http://old.icc.or.at/cgi-bin/dic/anetdic.cgi?lang=fr>) obtained after the first break rolls (FAR1) were recovered and directly reduced at the sizing step, skipping the second break roll. A mass ratio between flour produced at the sizing step from coarse endosperm particles obtained at the first break roll (FAR1 in incomplete milling) and FAR1 was determined (= EBA1) to more specifically study the endosperm behavior in size reduction. Similarly the ratio between sizing flour produced during milling from coarse endosperm particles obtained after the two breaking steps (FAR2) and FAR2 was determined to study the endosperm ability to break (=EBA2).

### Particle size distribution analysis

Particle size distribution of farina or resulting flour was analyzed with a laser beam particle size analyzer (Coulter Co, Miami, FL) using ethanol as a solvent and the sonication mode. Distribution was expressed as the percentage in volume according to the particle size.

### Statistical analyses

Analysis of variance, comparisons of means using Tukey's test (confidence interval 90%) and simple Pearson's correlations were performed using XLStat software (2008 version 7.03, Addinsoft, Paris, Fr.).

## Results and discussion

### NILs construction and grain characterization

In order to test the impact of two of the most frequent alleles (b and d) of Pinb-D1 found in French cultivated wheats and located on chromosome 5DS, near-isogenic lines were produced from two different crosses. Three pairs of lines (NIL1 to NIL3) were retained and analyzed for genetic similarity using diversity array technology (DArT) markers. As expected, similarity appeared higher between NIL2 and NIL 3 which were derived from the same cross (14.1% differences revealed using the DArT markers), whereas NIL1, coming from a different cross appeared more distant (26.1 and 27.3% differences with NIL2 and NIL 3, respectively according to DArT markers). Within NIL1, NIL2 and NIL3, differences between the 2 genotypes, which either present the Pinb-D1b allelic form (where Gly46 is replaced by Ser, Lillemo and Morris, 2000) or the Pinb-D1d allelic form (where Trp44 is replaced by Arg, Day et al 2006), were equal to 1.4, 0.7 and 0.9% , respectively, according to DArT markers, and thus lower than the theoretical level (=3.12 %) of residual heterozygosity at this selection step.

All of the samples were grown in four distinct locations and with two distinct levels of nitrogen fertilization in order to increase the variability of conditions under which grains were produced, thus increasing the probability of obtaining distinct grain texture. Mean values and standard errors of main grain characteristics are summarized in Table 20 for each NIL and were compared with cv. Soissons grown in similar conditions. TKW and TW mean values were found to be around 45 g and 79.5 kg/hl for NIL1 and NIL2, respectively whereas NIL3 exhibited higher values for TKW (49.5 g) and slightly higher values (80 kg/hl) for TW. No differences were observed taking into account both of the allelic forms. But very low variability (less than 10%) was observed between samples for these two characteristics

(especially for TW), as also found for Soissons, which displays lower TKW but TW values similar to those of NIL1 and NIL2.

*Tableau 20: Mean values and standard deviations (SD) of Thousand Kernel Weight, Test Weight, NIRS Hardness, SKCS hardness index, vitreousness and protein content from 3 pairs of near isogenic lines (NIL1 to NIL3) differing by Pinb-D1 allele and the French Soissons cultivar. Each distinct sample was grown in 4 locations, in 2008, and with two levels of nitrogen fertilization. Each line corresponds therefore to 8 distinct grain samples. Identical letters pointed out homogeneous groups provided by the statistical Tukey's test.*

<b>NILs/Cultivar</b>		<b>TKW (g)</b>	<b>TW (kg/hl)</b>	<b>NIRS hardness</b>	<b>SKCS- HI</b>	<b>Vitreousness (%)</b>	<b>Protein content (%)</b>
<b>NIL1</b>							
Pina-D1a/Pinb-D1b	mean	45.3 a	79.9 ab	82.4 b	61.7 d	62.0 d	13.4 c
	SD	1.8	0.8	3.8	10.1	15.5	1.1
Pina-D1a/Pinb-D1d	mean	44.9 a	79.4 a	73.3 a	55.6 c	54.3 c	13.0 c
	SD	2.7	1.1	7.2	10.4	15.8	0.9
<b>NIL2</b>							
Pina-D1a/Pinb-D1b	mean	45.8 a	79.6 ab	80.3 ab	47.7 ab	44.4 b	11.6 a
	SD	2.3	1.1	7.7	7.4	16.1	0.7
Pina-D1a/Pinb-D1d	mean	45.4 a	79.4 a	73.1 a	45.4 a	40.6 a	11.4 a
	SD	3.0	0.7	10.9	10.0	16.8	1.0
<b>NIL3</b>							
Pina-D1a/Pinb-D1b	mean	49.9 b	80.4 b	83.8 b	49.9 b	53.3 c	12.1 b
	SD	2.3	1.1	9.8	12.6	20.5	1.3
Pina-D1a/Pinb-D1d	mean	49.3 b	80.1 ab	77.1 ab	50.0 b	51.5 c	12.1 b
	SD	3.9	1.1	11.8	12.2	20.5	1.5
<b>Soissons</b>							
Pina-D1a/Pinb-D1d	mean	42.9	79.3	64.9	41.4	42.1	12.4
	SD	2.9	1.3	6.0	9.1	14.4	1.2

However, NIRS and SKCS hardness, as well as vitreousness, were found to display high variability. Therefore, the experimental plan appeared to be relevant to study the effect of grain texture on wheat grain milling behavior. As expected due to the puroindoline genotype of the considered samples, NIRS hardness values correspond to hard wheat type. Hardness and vitreousness of NIL samples were generally found to display higher values compared to Soissons samples grown in similar conditions. Furthermore, NIL1 appeared to display the highest SKCS hardness as well as the highest level of vitreousness in comparison with the other near-isogenic lines. Mean values for hardness and vitreousness appeared to be significantly higher in genotypes displaying Pinb-D1b compared with those with Pinb-D1d (except for NIL3), despite similar protein content in grains.

Thus, the effect on grain characteristics of the background genotype, or Pinb-D1 allele (b or d), as well as of the growth location and nitrogen level, were further analyzed (Table 21).

*Tableau 21: Effect of the genotype, Pinb-D1 allele (b or d), growth location and nitrogen level on grain characteristics of the three pairs of near-isogenic lines. \*, \*\*, \*\*\* significant at the 0.05, 0.01, 0.001 probability levels, respectively, ns marked non significant effect. Values are mean squares. Only significant interactions were pointed out.*

<b>Studied factor</b>	<b>df</b>	<b>TKW (g)</b>	<b>TW (kg/hl)</b>	<b>NIRS hardness</b>	<b>SKCS-HI</b>	<b>Vitreousness (%)</b>	<b>Protein content (%)</b>
Genetic background (NIL)	2	96.4***	2.7**	ns	623.1***	999.3***	12.0***
Pinb-D1 allele	1	ns	ns	697.7***	92.7**	233***	ns
Location	3	65.3***	9.1***	295.0***	1320.8***	3962.1***	10.4***
Nitrogen	1	ns	ns	275.6**	73.8**	413.7***	8.3***
NIL* Pinb	2	ns	ns	ns	38.0*	35.4**	ns
NIL* Location	6	8.1**	ns	ns	54.0***	77.0***	0.9***
Location* Nitrogen	3	ns	ns	334.4***	27.9*	60.5***	0.7**
Model fitting R <sup>2</sup>		0.92	0.83	0.84	0.97	0.99	0.96

Thousand kernel weight was found to be mainly affected by the genetic background whereas test weight was mostly affected by the growth location even if both genetics and the environment were found to act on these grain characteristics. Interestingly NIRS hardness was found to depend mainly on Pinb-D1 allele and was also affected by the combination of location and nitrogen amount. If NIRS hardness was already known to depend on the Pinb-D1 allele when lines displaying a wild type form (Pinb-D1a), corresponding to soft phenotype, were compared to lines containing a mutated form corresponding to hard phenotype (Morris and Massa 2003), the effect of the Pinb-D1 allele among the hard wheat types and the variability of its effect according to the growth conditions were unexpected. In comparison with NIRS hardness, the measured SKCS hardness index was found to be mainly dependent on the growth location and genetic background. Similar influence of culture location and genetic background was also observed for vitreousness. Therefore for these set of genotypes, the SKCS hardness index seems to take into account the vitreousness differences between samples better than NIRS hardness measurements. This could be due to the differences

between NIRS and SKCS measurements. Indeed SKCS HI value determines the required force for grain breaking and helps to define four ranges based on the kernel texture characteristics (Gaines et al 1996), which depend both on the genetic background and the growth conditions, whereas NIRS hardness is more related to the size of the obtained products after grinding. Therefore relationships between these grain characteristics appeared important to analyze. Furthermore, protein content of the samples under study did not appear to be correlated with the puroindoline allele but to depend on the NIL type. As expected, protein content was also found to depend on both the growth location and the nitrogen level. Indeed, Daniel and Triboi (2000) have already demonstrated the effect on nitrogen addition and temperature conditions on grain protein content.

The relationships between grain characteristics were therefore studied using Pearson's test.

The highest correlation between the analyzed grain characteristics was found between SKCS hardness index and vitreousness ( $r = 0.92$ ), as well as with the protein content ( $r = 0.84$ ), whereas NIRS hardness was significantly correlated with these grain parameters but at a lower level ( $r$  around 0.4). Morris and Massa (2003) also compared different texture measurements (i.e. NIR hardness, SKCS and PSI) and already pointed out the lower relationship between NIR hardness determination and SKCS HI within a hardness class in comparison with the relationship established when cultivars from both hard and soft classes were taken into account. As SKCS measurement is more related to compression tests and produces a four-class frequency distribution of hardness data for each sample, this hardness index value more clearly reflect the intrinsic sample variability as already pointed out by Morris et al (2008b) similarly to the vitreousness measurement. The narrower genetic background of the studied population could also explain this weak correlation. However relationships between SKCS HI and vitreousness were already reported in common wheat

( $r=0.7$ ; Orucevic et al 2008) or durum wheat ( $R^2 = 0.99$ ; Sissons et al 1999). In barley, relationships between SKCS and light transfectance measurement as well as visual assessment of mealiness were also pointed out (Gamlath et al 2005; Psota et al 2008). Test weight was also found to be significantly and positively correlated with vitreousness and hardness either measured with NIRS or SKCS, as well as with the protein content. By contrast, thousand kernel weight was negatively correlated with vitreousness and SKCS HI and protein content. Indeed an increase in the protein level appears to be correlated with an increase of vitreousness which affects the grain density, as already reported in durum wheat (Samson et al 2005), but probably occurs inversely to the grain size. Similar negative correlation between thousand kernel weight and SKCS hardness index was also pointed out by Gazza et al (2008) studying wheat grains grown in distinct locations.

### Endosperm breakage ability (EBA) and grain milling behavior

All of the grain samples were milled in order to study their behavior depending on the grain nature and characteristics and particularly the effect of the distinct endosperm structure on the ability for size reduction by grinding. Therefore, the main retained parameters were: percentage of coarse endosperm particles, known as farina, produced at the first break roll (FAR1) or after two breaking steps (FAR2), ratio between flour produced from farina and corresponding farina obtained either at the first break roll (EBA1) or after two break rolls (EBA2), and total flour yield (TFY). A variance analysis (Table 22) was performed in order to study the effect of the genetic background, Pinb-D1 allele, and environmental conditions on the retained parameters.

Production of farina as well as its size reduction was found to be mainly related to the wheat growth location and genetic background. The effect of the Pinb-D1 allele was also found significant but at a lower level than the other parameters. Indeed endosperm from wheat grains carrying the Pin-b-D1d allele showed a slightly higher ability to break compared with



grains carrying the Pinb-D1b allele. The effect of nitrogen addition in soil was also found to be significantly related to the farina production and to the endosperm ability for size reduction from the first break (EBA1). Total flour yield (TFY) was also related to the wheat growth location and the genetic background. But in this case the genetic background appears as the predominant factor.

Tableau 22: Effect of the genotype, Pinb-D1 allele (b or d), growth location and nitrogen level on grain milling characteristics of the three near-isogenic lines. Same legends as in Table 2.

Studied factor	df	FAR1 (%)	FAR2 (%)	EBA1	EBA2	TFY (%)
Genetic background (NIL)	2	8.4***	8.7***	211.6***	98.1***	7.2***
Pinb-D1 allele	1	2.4*	4.2*	35.9***	20.9*	0.9*
Location	3	42.7***	55.0***	229.8***	137.3***	3.2***
Nitrogen	1	20.5***	43.4***	9.1***	ns	ns
NIL*Pinb				2.8*	ns	0.7**
NIL* Location	2	1.8***	5.1*	4.0***	ns	0.5**
Pinb* Location	6	1.3*	ns	1.7*	ns	ns
NIL * Nitrogen	2	ns	3.4*	ns	ns	ns
Location* Nitrogen	3	2.8***	ns	ns	ns	ns
Model fitting R <sup>2</sup>		0.96	0.92	0.99	0.90	0.92

In order to better understand the grain milling behavior, relationships between the studied parameters and the grain characteristics were analyzed (Table 23).

Tableau 23: Relationships between grain characteristics and milling behaviour assessed with Pearson's correlations. Significant correlation with  $p = 0.01$  were marked in bold character. Correlations are only presented once in the table. Reported values are  $r$ .

Variables	FAR1 (%)	FAR2 (%)	EBA1	EBA2	TFY (%)
TKW (g)	-0.33	-0.19	0.34	0.20	0.60
TW (kg/hl)	0.60	0.64	-0.55	-0.57	-0.03
NIRS hardness	0.50	0.47	-0.43	-0.41	-0.14
SKCS-HI	0.80	0.79	-0.92	-0.82	-0.73
Vitreousness (%)	0.90	0.86	-0.91	-0.79	-0.59
Protein content (%)	0.88	0.78	-0.85	-0.68	-0.63
FAR1 (%)	1				
FAR2 (%)	0.85	1			
EBA1	-0.79	-0.76	1		
EBA2	-0.61	-0.69	0.86	1	
TFY (%)	-0.49	-0.42	0.71	0.59	1

Clear positive relationships between the farina ability for size reduction and total flour yield were found. Indeed farina ability for size reduction at first break (ERA1) could help to explain 50 % of the total flour yield (TFY) which is in accordance with previous studies (Greffeuille

et al 2007). As expected however, production of farina which is inversely proportional to the flour production appears to be negatively correlated to the total flour yield. Analysis of relationships between milling behavior and grain characteristics clearly pinpointed the influence of vitreousness on the production and size reduction of farina. Indeed an increase of grain vitreousness appears to increase the farina yield and negatively affects its breakage ability, leading therefore to flour yield reduction. Therefore as location and genetic background were found as the main factors contributing to vitreousness (Table 21), they were also found to be significantly related to the size reduction ability of farina (Table 22). As SKCS hardness index and the protein content were found to be highly related to vitreousness ( $r=0.92$ ), it was not surprising that similar correlations could be observed between the milling analyzed parameters and these grain characteristics. Results also showed more significant correlations at the first breaking step where farina originated mainly from the inner part of the endosperm (EBA1). If Pinb-D1 allele was found significantly related to the milling grain behavior as measured by the farina and flour yields and the farina breakage ability, its influence appears less than the site of cultivation and the genetic background. As this influence of puroindoline allele could simply be due to differences in vitreousness (Tables 20 and 21) between grains carrying either Pinb-D1b or Pinb-D1d, deeper analysis between EBA1 and vitreousness was carried out on the overall set of samples and compared with the cv. Soissons (carrying Pinb-D1d) grown in the same conditions (Figure 39).

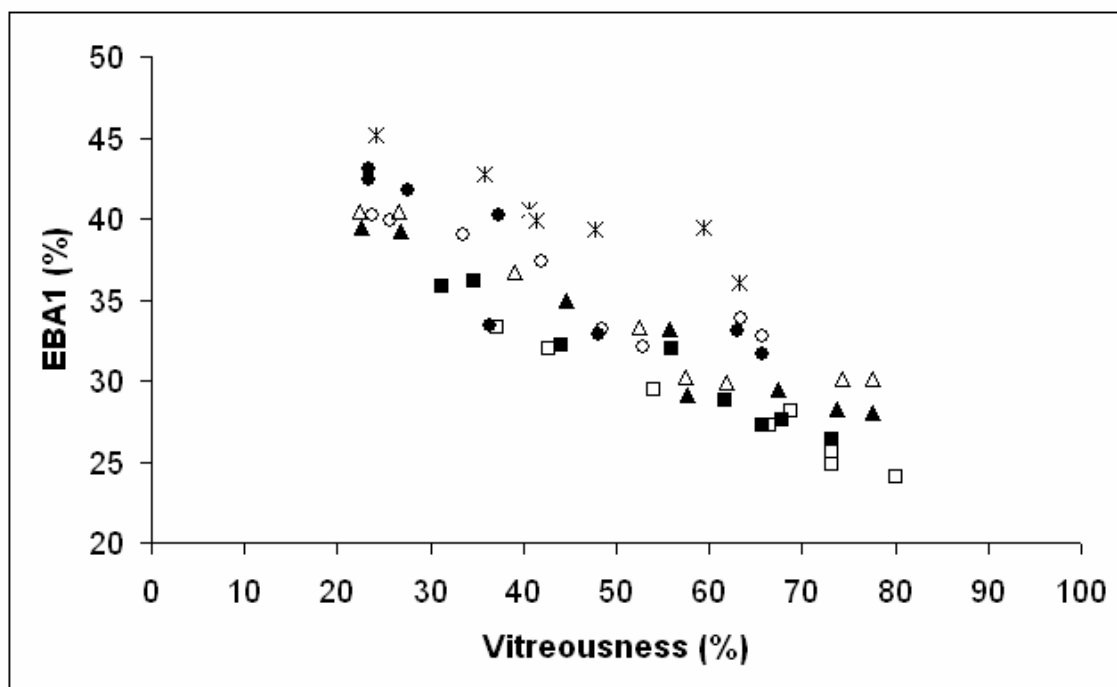


Figure 39: Correlation between grain vitreousness and endosperm size reduction ability at first break (EBA1). Data are from *Soissons* which carries Pinb-D1d (\*), NIL1-Pinb-D1b (□), NIL1-Pinb-D1d (■), NIL2-Pinb-D1b (○), NIL2-Pinb-D1d (●), NIL3-Pinb-D1b (△), NIL3-Pinb-D1d (▲). Equations of regression lines for the different genotypes are respectively:

*Soissons*:  $y = -0.20x + 49.4$ ;  $r^2 = 0.90$

NIL1: Pinb-D1b:  $y = -0.21x + 41.1$ ;  $r^2 = 0.96$ ; Pinb-D1d:  $y = -0.24x + 43.6$ ;  $r^2 = 0.95$

NIL2: Pinb-D1b:  $y = -0.19x + 44.6$ ;  $r^2 = 0.83$ ; Pinb-D1d:  $y = -0.26x + 47.7$ ;  $r^2 = 0.76$

NIL3: Pinb-D1b:  $y = -0.22x + 44.7$ ;  $r^2 = 0.94$ ; Pinb-D1d:  $y = -0.21x + 45.0$ ;  $r^2 = 0.90$ .

Results confirmed the existence of a negative linear relationship between the endosperm ability for size reduction and grain vitreousness whatever the sample analyzed. It also pointed out the major effect of the genetic background differences in comparison with the carried puroindoline allele.

Furthermore, coarse endosperm particles (farina) from the first breaking step (FAR1) from cv. *Soissons* grains were found to display a higher ability for size reduction (expressed by EBA1) than the near-isogenic lines even if grains of similar vitreousness were compared. Similar conclusions were also obtained if vitreousness values were replaced by the grain protein content or SKCS hardness index (data not shown).

### Study of the particle size before and after farina reduction

In order to further study the differences in farina ability for size reduction among the examined wheat grain samples, size distribution profile of farina from the first breaking step (FAR1) were analyzed before and after sizing reduction. For this study, only samples grown under a standard nitrogen amount on the sites leading to the most contrasted grain vitreousness were retained. These locations were Cappelle, where samples displayed vitreousness between 20 and 45%, and Maule where grain vitreousness was comprised of between 50 and 70%. Typical curves of particle size distribution from farina before and after reduction are shown in Figure 40.

Fig. 2

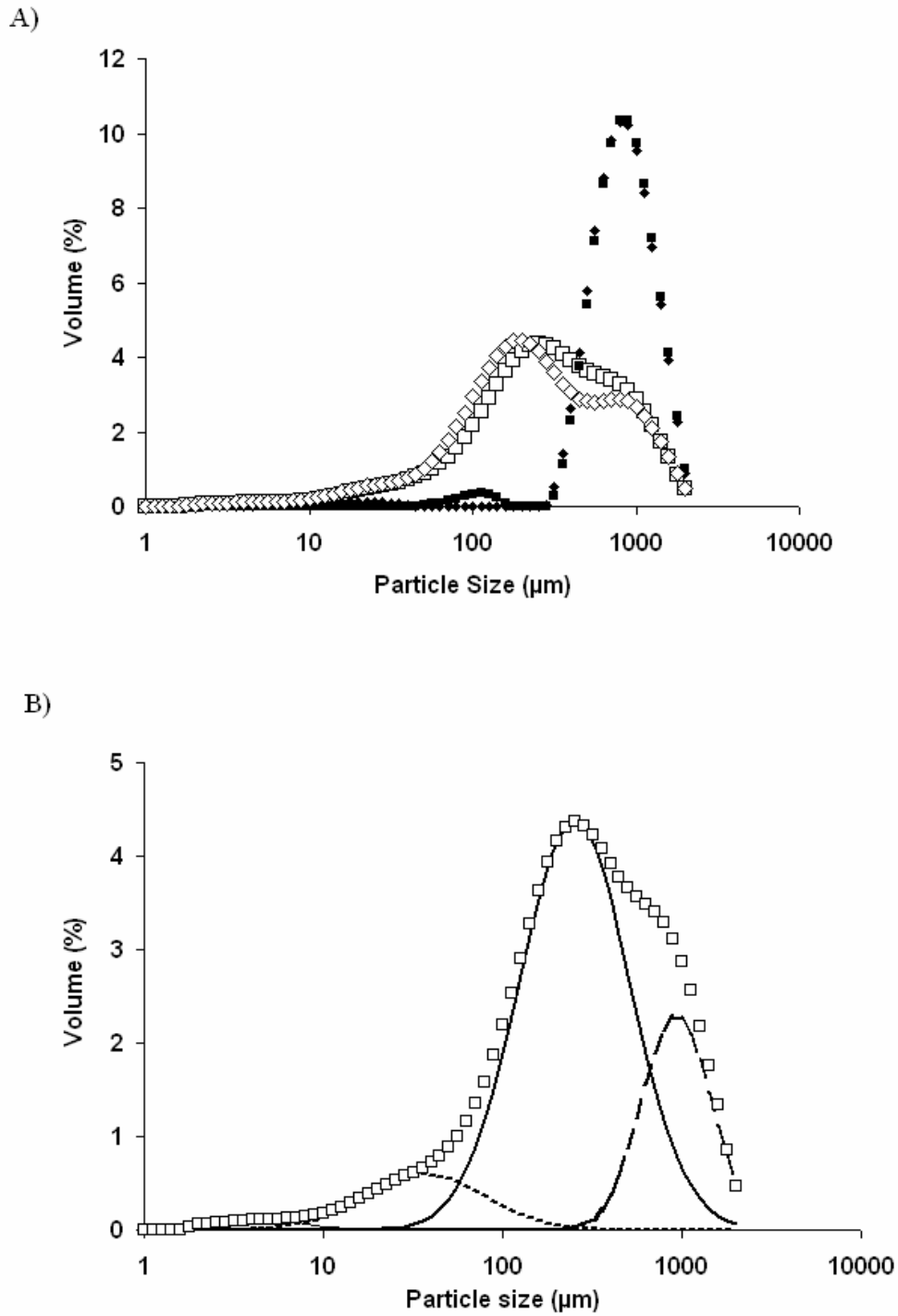


Figure 40: Percentage of volumes of farina particles according to their size after reduction. Experimental data from NIL1-Pinb-D1b grown in two distinct locations (without nitrogen addition) which results in vitreous (squares) or non vitreous endosperm (diamond-shaped). Example of modelling curves (B) for the vitreous sample of NIL-Pinb-D1b. Squares are the experimental data, four peaks are generated by mathematical treatment of the data and correspond either to large particles (crosses), medium-size particles (round), small particles (diamond shaped) and to the finest particles (not shown at this representation scale as it only corresponds to less than 1.3 % of the particle total volume).

Before reduction, size of the farina particles were comprised between 300 and 2000  $\mu\text{m}$  and centered around 800  $\mu\text{m}$  as illustrated in Fig. 2A with NIL1-Pinb-D1b. However comparison of the mean size of farina particles clearly pointed out differences between the two locations (Table 24). Indeed, the location which was shown to lead to the most vitreous samples (Maule) was found to correspond to the largest farina particles. Significant differences between mean particle size of farina from the distinct near-isogenic lines was also observed, NIL3 displaying the lowest mean particle size. No distinction between lines with the different alleles of Pin-B was pointed out even if potential interactions between genetic background and Pin-B was revealed using variance analysis ( $p=0.05$ ). Interestingly, FAR1 obtained after milling from the Soissons cv., grown in the same locations as NILs, was found to display a lower value for mean particle size.

Tableau 24: Mean values and standard deviations (SD) of particle size ( $\mu\text{m}$ ) and percent volume of particles from farina (FAR1) before and after reduction obtained after milling of the different grain samples (NIL1 to NIL3) differing by Pinb-D1 allele and the French Soissons cultivar grown in 2 distinct locations

		Before reduction		Particles from FAR1 reduction after sizing rolls							
		FAR 1		Large particles		Medium- size particles		Small particles		Finest particles	
		Particle mean size ( $\mu\text{m}$ )	Particle mean volume (%)	Particle mean size ( $\mu\text{m}$ )	Particle mean volume (%)	Particle mean size ( $\mu\text{m}$ )	Particle mean volume (%)	Particle mean size ( $\mu\text{m}$ )	Particle mean volume (%)	Particle mean size ( $\mu\text{m}$ )	Particle mean volume (%)
<b>Genetic background</b>											
NIL1 (n=4)	Mean	836.8 b	98.8 a	909.9 a	20.7 a	222.3 c	70.1 a	30 a	8.0 b	4.7 a	1.5 a
	SD	17.5	1.7	43.6	3.9	29.7	3.8	6	1.6	0.4	0.2
NIL2 (n=4)	Mean	859.9 c	97.8 a	942.6 a	23.1 a	182.5 a	69.3 a	26 a	6.0 a	5.2 a	2.3 b
	SD	16.9	1.6	13.4	3.3	37.7	2.8	5	1.3	0.3	0.5
NIL3 (n=4)	Mean	812.7 a	96.6 a	870.4 a	26.4 a	199.8 b	64.8 a	26 a	6.7 ab	4.8 a	2.1 ab
	SD	32.5	1.0	36.2	5.2	33.6	5.0	5.0	2.0	0.3	0.4
Soissons (n=2)	Mean	809.6	96.5	906	28.1	167.3	62.1	24	6.8	5.2	3.0
	SD	24.1	0.9	80.8	4.9	30.4	4.7	3.0	0.9	0.7	0.7
<b>Location</b>											
Cappelle (n=6)	Mean	821.7 a	96.9 a	921.4 a	26.1 a	169.6 a	66.2 a	23.2 a	5.9 a	4.8 a	2.2 b
20 % <v<45 %	SD	31.5	1.6	23.2	4.1	22.3	4.0	2.4	1.3	0.3	0.6
Maule (n=6)	Mean	851.2 b	98.6 a	893.8 a	20.7 a	227.4 b	69.9 a	31.6 b	8.0 b	5.0 a	1.7 a
50 % <v<70 %	SD	19.2	1.2	55.9	3.4	16.2	4.2	3.9	1.6	0.4	0.2

leading to contrasted vitreousness (v). Identical letters pointed out homogeneous group provided by the statistical Tukey's test

After farina breakage, distribution of the particle size was enlarged and showed a complex profile comprised between 5 and 2000  $\mu\text{m}$  (Fig. 2A). Particles from the most vitreous grains (grown in Maule location) appeared less reduced compared to the other grain samples whatever the genotype, however, main differences between curves were difficult to pinpoint. Therefore, a mathematical model was further used in order to fit the data of particle size distribution and determined their main characteristics for each sample. As the experimental curve between volume according to the size of the particles displayed four discrete peaks, the

model was considered as the sum of four Gaussian-like shaped functions,  $F(x) = \sum_{i=1}^{i=4} F_i(x)$

where  $F_1, F_2, F_3, F_4$  correspond to large, medium-size, small and finest particles, respectively.

Each function was expressed with the following equation:

$$F_i(x) = D_i \cdot \exp\left[-\frac{1}{2} \left( \frac{\log(x) - \log(\bar{m}_i)}{\log(\sigma_i)} \right)^2\right],$$

where  $D_i$  corresponds to the peak height,  $x$  to the particle size,  $\bar{m}_i$  to the mean particle size of the sub-population i.e. the particle size at the peak of each Gaussian-like curve,  $\sigma_i$  the deviation around the mean particle size. Values for  $D_i, \bar{m}_i$ , were first estimated manually from the experimental curve and  $\sigma_i$  first fixed to 0.5. Then, these parameters were adjusted by minimization of the differences between the area under the experimental data curve  $\Phi(x)$  and the mathematical model using the solver function of Excel (Microsoft Office 2007). The

following function,  $\min \left[ \sum_{x \in R} |F(x) - \Phi(x)| \right]$ , where  $R$  was the set of observed particle size values,

was used to minimize the differences between data and the model curve for large and

medium-size particle peaks whereas  $\min \left[ \sum_{x \in R} |F(e_x) - \Phi(e_x)| \right]$  was used to minimize differences

due to the small and the finest particles as it takes into account the number of the particles instead of the volume and was thus more adapted to these type of particles. This model was



found to fit correctly the data curves as illustrated in Fig. 2B, and to help the determination of  $\bar{m}$ ,  $\sigma$  and  $D$  for each type of particle. Indeed, root mean squared errors were comprised between 0.09 and 0.14 for curves corresponding to particles of farina before breakage and between 0.02 and 0.08 for curves corresponding to particles after farina breakage by the sizing step. Table 5 summarizes the results obtained for mean particle size of the farina particles and in each peak obtained after farina breakage. It also reports the percentage of the total volume in each peak of particles. Analyses of the volume of particles distributed in the four peaks deduced from the curve of each sample after farina size reduction revealed that around 20 to 28% of the material was not reduced with the equipment used. As no differences were observed between samples, this could correspond to the grinding limit of the reduction cylinder. However, sixty to seventy percent of the volume of particles were recovered in the peak of medium-size particles after the sizing step. The other peaks, corresponding to small and finest particles, represented 6-8 % and 1.5-3 %, respectively. Comparison of the mean size of particles in this peak from distinct samples revealed a larger size of particles obtained from grains grown in the location (Maule), which are more vitreous than in the other location. Analysis of variance also pointed out the main importance of the location site (significant at  $p < 0.001$ ) in the mean size of this type of particles. Moreover, significant differences (significant at  $p < 0.01$ ) between NIL were also pointed out. Medium-size particles of NIL 2 were found to display the lower mean value (182.5  $\mu\text{m}$ ) compared to NIL 3 (199.8  $\mu\text{m}$ ) and NIL1 (222.3  $\mu\text{m}$ ) which was in accordance with the greatest ability of NIL 2 to be reduced, as expressed by the endosperm breakage ability (EBA1) values (%) shown in Fig. 1. Indeed in the used milling prototype, separation of flour particles from farina occurred on a sieve of 200  $\mu\text{m}$  mesh, therefore differences of the EBA1 values could be due to differences of the mean medium-particle size obtained after size reduction of farina from the distinct NIL or from samples grown at distinct locations. Thus, if differences in location leading to distinct level of

vitreousness mainly impact on endosperm breakage ability as measured by EBA1, the effect of genetic background also appeared as an important factor to consider. Comparison of mean medium-particle size values obtained from NILs with those obtained after farina reduction from Soissons cv. clearly pointed out the low particle size value from this cultivar (mean size = 167.3) which is in accordance with the highest ability of the endosperm from these grains to be reduced as measured by the ratio of flour to the farina production (EBA1 in Fig. 1).

## Conclusions

The growing location was found to affect the grain vitreousness level and differences in vitreousness were found depending on the Pinb-D1 allele of the near-isogenic line (grains from lines containing the Pinb-D1d allele were found to be less vitreous).

The increase in vitreousness of samples with a similar genetic background was found to deeply affect the endosperm ability for size reduction and thus the efficiency of flour production from farina. Therefore in order to select the sample displaying the best ability for flour production among a set of grain samples from the same hard wheat cultivar, millers have to choose the one with the lowest vitreous grains. The potential of SKCS hardness index measurement to evaluate the wheat grain vitreousness within hard wheats has also been highlighted. Furthermore, differences in endosperm breakage ability appeared to be mainly due to the genetic background rather than to the Pinb-D1 allele and the higher endosperm ability for size reduction from Soissons grains was pointed out. The size of the medium-size particles obtained from farina size reduction appears as a critical parameter to relate with this better endosperm size reduction ability and higher flour yield.

## Acknowledgments

This work has received funding from the FSOV (Fund to support plant selection, Paris, Fr.) and from a French research project between INRA (National Institute of Agronomic Research, Paris) and UFS (French union of breeders, Paris, Fr.), ANMF (National Association of French Flour-milling, Paris, Fr.), ARVALIS - Institut du végétal (Paris), IRTAC (Paris), Kraft Foods (Saclay, Fr.), Chopin Technologies (Villeneuve la Garenne, Fr.), Bühler (Villepinte, Roissy, Fr) and ENILIA-ENSMIC (Surgères, Fr.). P. Lasme has also been partly financed by the French Research Minister.

We are also grateful to S. Alquié and N. Beaubras (INRA non permanent staff) for their measurement of grain vitreousness, to G. Maraval and M. Chaurand (UMR IATE, Montpellier) for their help in the management of the Chopin prototype and T. M. Lasserre (UMR IATE, Montpellier) for her help in the particle size measurements. Additionally, we would like to thank S. Destercke (UMR IATE, Montpellier) and T. Andon (one-person business SIRET: 514 905 983 00011) for helpful reading and corrections.

## **Partie 2 : Etude des effets des facteurs génétiques et agronomiques sur l'aptitude à la réduction de l'albumen pour les lignées hard/soft (NILA et NILB, portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a et Pina-D1a/Pinb-D1b).**

Cette étude a été réalisée à l'aide des 2 lignées quasi-isogéniques pour la dureté NILA et NILB portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (soft) et Pina-D1a/Pinb-D1b (hard). Les effets des facteurs étudiés et des caractéristiques sont d'abord étudiés globalement sur l'ensemble des échantillons des lignées NILA et NILB, puis séparément au sein des échantillons de types soft et hard de ces lignées.

### **I Présentation des caractéristiques des échantillons du sous-ensemble étudié**

Compte tenu des contraintes liées à la disponibilité des échantillons dans le temps et à notre capacité d'analyse, un sous-ensemble de la population décrite dans le chapitre 1 a été utilisé pour l'étude du comportement en mouture. Ce sous-ensemble comporte 48 échantillons des lignées NILA et NILB provenant des récoltes 2007 et 2008 sur les 3 lieux communs Clermont-Ferrand (CF), Estrées-Mons (EM) et Rennes (RE). Les caractéristiques de ces échantillons ainsi que les résultats de mouture sont présentés en annexe 4.

Les figures 41 et 42 présentent les relations entre la dureté NIRS et la vitrosité au sein des échantillons soft et hard respectivement. Dans ces deux figures on observe que les échantillons de la récolte 2008 présentent des valeurs de dureté NIRS et de vitrosité globalement plus élevées que ceux de la récolte 2007. Ces observations sont conformes aux résultats présentés dans le chapitre 1, qui montrent que l'année de récolte constitue la plus grande source de variation des caractéristiques des grains parmi les facteurs environnementaux.

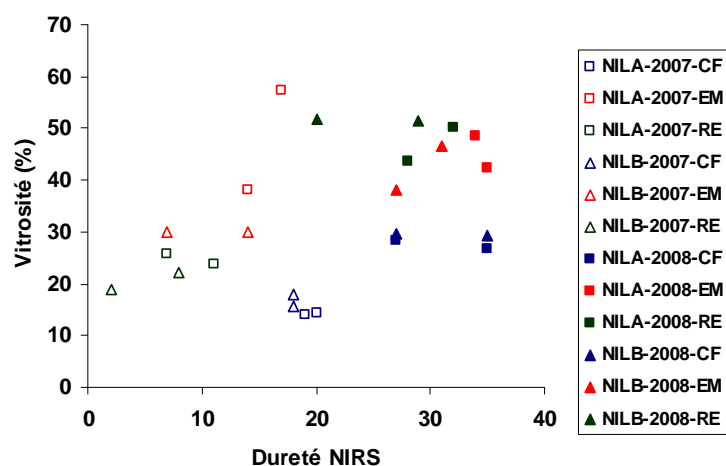


Figure 41: Lien entre dureté et vitrosité des échantillons de type soft (Pina-D1a/Pinb-D1a) des lignées NILA et NILB. CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; RE : Rennes.

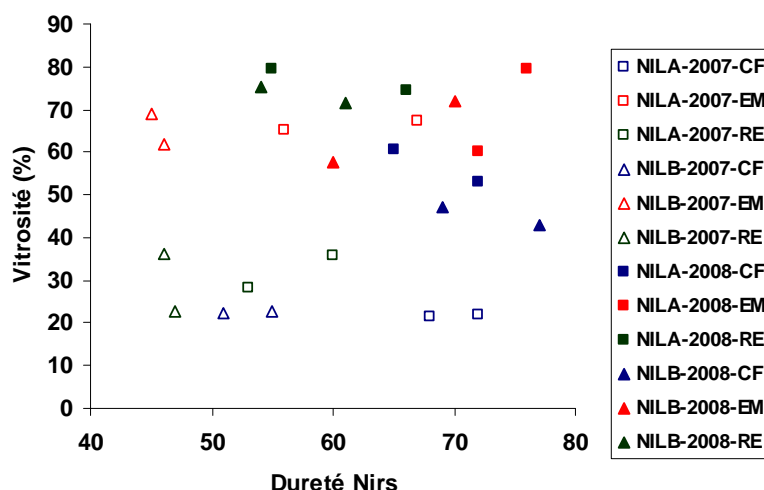


Figure 42: Lien entre dureté et vitrosité des échantillons de type hard (Pina-D1a/Pinb-D1b) des lignées NILA et NILB. CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; RE : Rennes.

Les corrélations entre les caractéristiques des échantillons du sous-ensemble étudié sont présentées dans le tableau 25. Les plus fortes valeurs de coefficient de corrélations sont observées entre la vitrosité et la dureté SKCS ( $r=0,901$  pour les échantillons de type soft et  $0,801$  pour ceux de type hard), ces 2 caractéristiques sont donc très fortement liées (Figures 43 et 44). Ces fortes corrélations entre la dureté SKCS et la vitrosité sont en accord avec certains résultats antérieurs (Orucevic et al. 2008; Sissons et al. 2000; Weightman et al. 2008) ainsi que ceux décrits dans la partie 1 de ce chapitre. Par contre la valeur du coefficient de corrélation entre la dureté NIRS et la dureté SKCS est faible pour les échantillons de type soft ( $r=0,407$ , significatif), et non significative pour les échantillons de type hard. Ces 2

caractéristiques semblent donc très faiblement liées entre elles chez les soft, et pas liées dans le cas des hard. Ces faibles niveaux de corrélation pourraient probablement être expliqués par les différentes des méthodes de détermination. En effet la dureté NIRS a été calibrée sur le PSI qui est basée sur l'analyse de la granulométrie d'une poudre de grain obtenue par un broyage standardisé, alors que la dureté SKCS mesure une force minimale requise pour écraser un grain placé entre 2 surfaces.

De fortes corrélations, très hautement significatives, sont aussi observées entre la dureté NIRS et le PS pour les échantillons de type soft ( $r=0,816$ ) et entre la dureté NIRS et le PMG pour les échantillons de type hard ( $r=0,729$ ). Enfin, une forte corrélation très hautement significative est observée entre le PMG et le PS chez les échantillons de type hard. Ces valeurs, qui sont plus élevées que celles présentées dans le chapitre précédent avec un plus grand nombre d'échantillons, pourraient s'expliquer par le fait que l'effectif du sous-ensemble étudié ici ne soit pas suffisamment élevé pour être représentatif de la population initiale.

Tableau 25: Coefficients de corrélation  $r$  entre les caractéristiques des grains au sein des échantillons portant les allèles *Pina-D1a/Pinb-D1a* (Soft) et *Pina-D1a/Pinb-D1b* (Hard). ns : non significatif

	Variables	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté NIRS	Vitrosité (%)
Soft ( <i>Pina-D1a/Pinb-D1a</i> )	PS (kg/hl)	0,563**				
	Protéines (%)	Ns	-0,556**			
	Dureté NIRS	0,617**	0,816***	ns		
	Vitrosité (%)	Ns	0,416*	ns	0,449*	
	Dureté SKCSI	Ns	ns	ns	0,407*	0,901***
Hard ( <i>Pina-D1a/Pinb-D1b</i> )	PS (kg/hl)	0,743***				
	Protéines (%)	-0,247	ns			
	Dureté NIRS	0,729***	0,462*	ns		
	Vitrosité (%)	ns	ns	0,493*	ns	
	Dureté SKCSI	ns	0,513*	ns	ns	0,801***

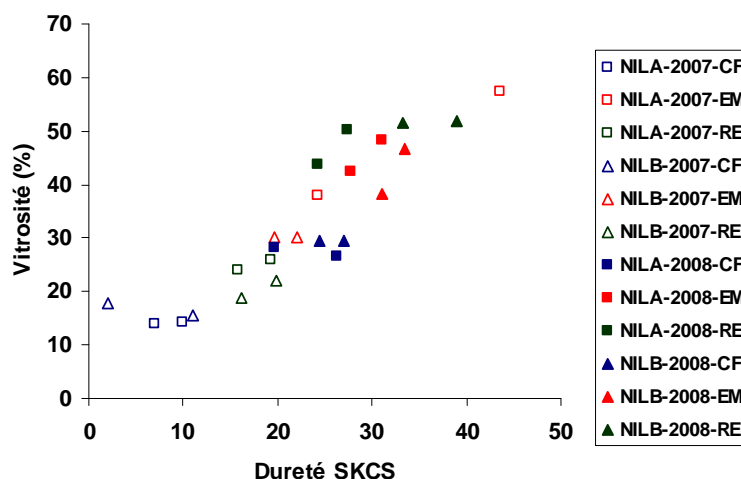


Figure 43: Lien entre la Dureté SKCS et la Vitreosité des échantillons des lignées NILA et NILB portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a.

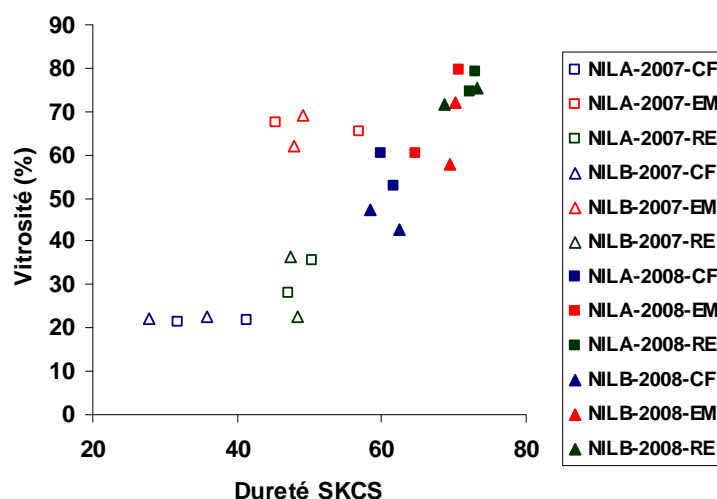


Figure 44: Lien entre la Dureté SKCS et la Vitreosité des échantillons des lignées NILA et portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a.

## II Etude du comportement en mouture des échantillons du sous-ensemble

Pour l'étude du comportement en mouture, des paramètres de mouture ont été choisis de façon à étudier les différences de comportement lors des étapes clés de la mouture qui sont le broyage B1 (lorsque le grain est fragmenté), la production et la réduction des grosses semoules (qui permet d'évaluer l'aptitude à la réduction de l'albumen), et le résultat final de la mouture. Ainsi, pour le broyage B1, les pourcentages de farine « Farine B1 » et de grosses semoules « G Sem B1 » sont analysés. Lors de la réduction des semoules les pourcentages de grosses semoules totales « G Sem » et de fines semoules totales « F Sem » produites, et les pourcentages de farines obtenues par la réduction des grosses semoules « FCL/Gsem » et

fines semoules « FC1/FSem » sont analysées. A la fin de la mouture, le rendement en farine totale « Rdt », le pourcentage de sons totaux obtenus « Sons » et le pourcentage de remoulages « Rem » sont analysés.

L'analyse de la variance réalisée sur l'ensemble des échantillons de lignées NILA et NILB montre un effet majeur des allèles de puroindoline sur les paramètres de mouture analysés, suivi par l'effet de l'année de récolte (Tableau 26). En particulier les effets des allèles de Puroindoline sur la production de farine et de semoule au broyeur B1 confirment les résultats antérieurs (Dongyun et al. 2009; Greffeuille et al. 2007; Greffeuille et al. 2006b; Hogg et al. 2005; Park et al. 2009). En effet au broyage B1, les échantillons de type soft produisent de plus forts pourcentages de farine (Farine B1) et plus faibles pourcentages de grosses semoules que ceux de type hard (Figures 45 et 46). De même, la production totale de grosses et fines semoules au cours de la mouture est plus faible pour les soft par rapport aux hard (Figures 47 et 48). Ces observations sont en accord avec la texture plus friable de l'albumen des blés soft qui ont donc tendance à produire plus de particules de petites tailles (farines, tailles inférieures à 200 µm) par rapport aux hard qui produisent plus de particules de grosses tailles. Semoules, tailles comprises entre 200 et 1000 µm).

*Tableau 26 : Analyse de la variance des paramètres de mouture des échantillons des lignées NILA et NILB, allèles Pinb-D1a et Pinb-D1b, cultivées sur les lieux CF, EM, RE, azotes N et N+, récoltes 2007 et 2008. Les facteurs d'interactions non pas d'effets significatifs. ns : non significatif*

Source	DDL	Farine B1	G Sem B1	G Sem	F Sem	FCL/GSem	FC1/FSem	Sons	Rem	Rdt
Lignées	1	19,9***	6,4**	45,3***	26,7***	ns	ns	ns	ns	ns
Pinb	1	882,6***	401,7***	858,0***	1421,3***	130,8***	ns	52,1***	ns	25,0***
Année	1	156,1***	106,3***	126,4***	483,6***	ns	1169,6***	48,3***	ns	80,2***
Lieu	2	15,6***	19,7***	22,0***	29,4***	25,6**	ns	13,8***	ns	17,5***
Azote	1	10,2**	7,3**	7,8*	19,8**	ns	ns	ns	ns	ns



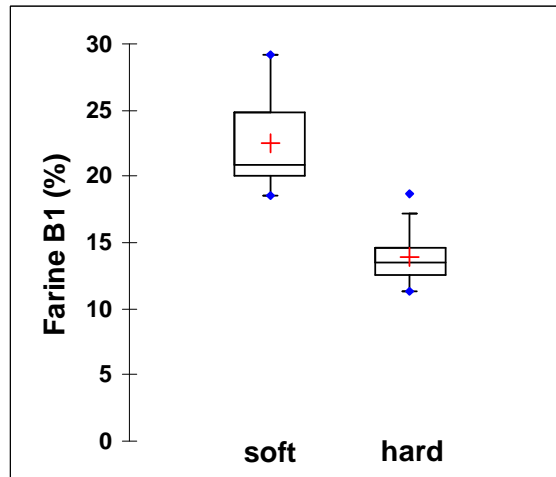


Figure 45: Variabilité du pourcentage de farine produite et broyage B1 en fonction du type de dureté

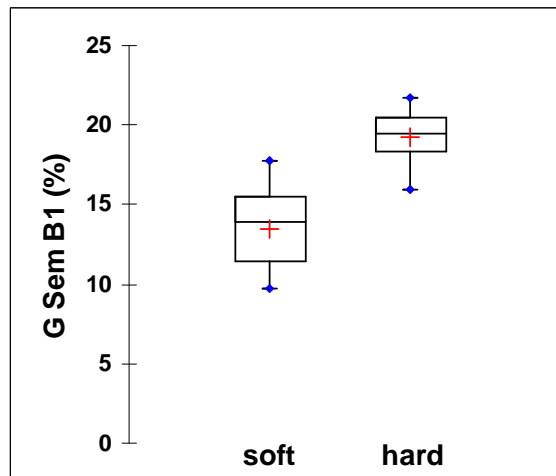


Figure 46: Variabilité du pourcentage de grosses semoules produites au broyage B1 en fonction du type de dureté

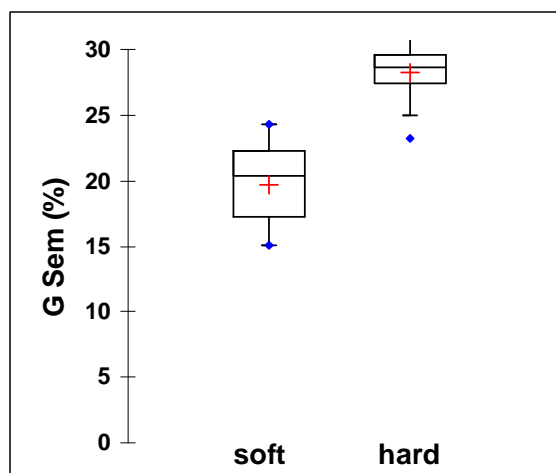


Figure 47: Variabilité du pourcentage de grosses semoules totales produites au cours de la mouture en fonction du type de dureté

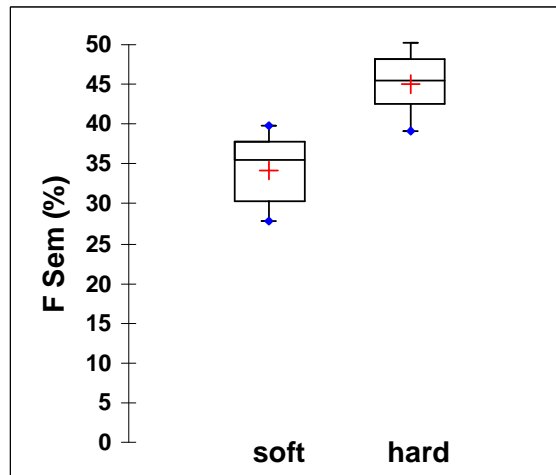


Figure 48: Variabilité du pourcentage de fines semoules totales produites au cours de la mouture en fonction du type de dureté.

Lors de l'étape de la réduction des grosses semoules, les échantillons soft présentent encore des pourcentages de farine plus élevés que les hard (Figure 49). Cependant, on ne distingue pas de différence significative de pourcentage de farine produite entre les soft et hard lors de l'étape de réduction des fines semoules (Figure 50).

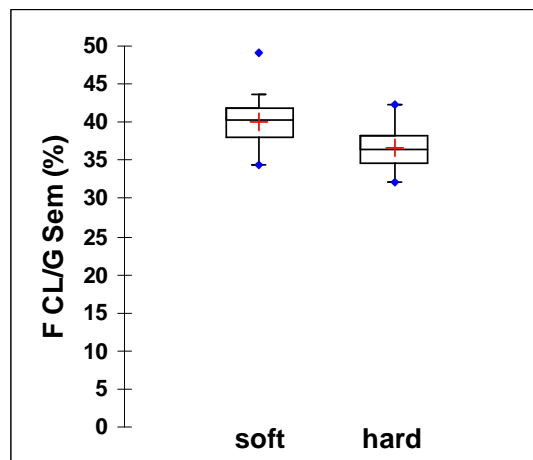


Figure 49: Variabilité du pourcentage de farine produite lors de la réduction des grosses semoules en fonction du type de dureté du grain

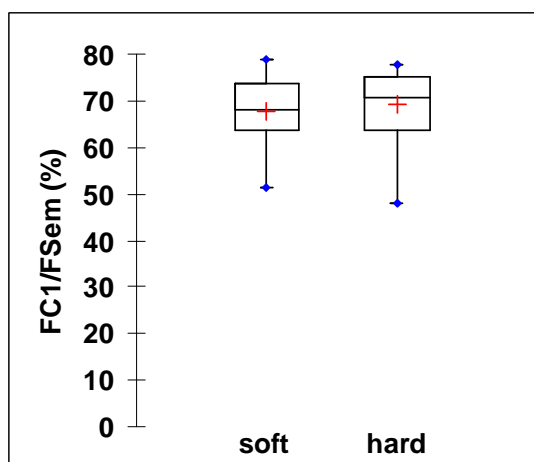


Figure 50: Variabilité des pourcentages de farine produites lors de la réduction des fines semoules en fonction du type de dureté

A la fin de la mouture, aucune différence significative n'a été observée entre les hard et le soft en ce qui concerne le pourcentage de remoulage produit. Cependant, le rendement en farine totale était significativement plus faible pour les échantillons soft par rapport aux hard. A l'inverse, le pourcentage de sons produit était plus élevé pour les soft (Figures 51 et 52). Ce résultat suggère que les blés de type soft pourraient perdre une partie de leur albumen amylicé dans les sons, conformément aux résultats des travaux de Greffeuille et al. (2005).

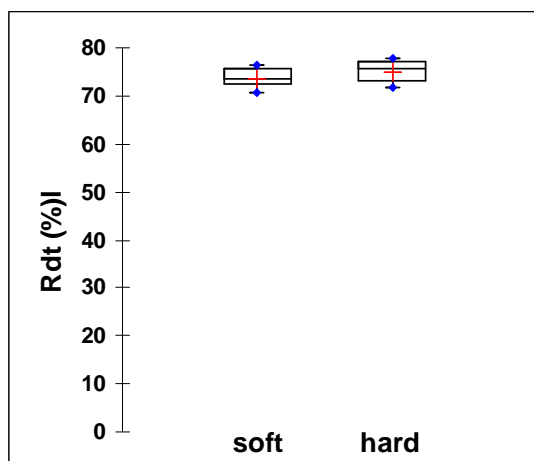


Figure 51: Variabilité du rendement en farine totale obtenu à la fin de la mouture en fonction du type de dureté

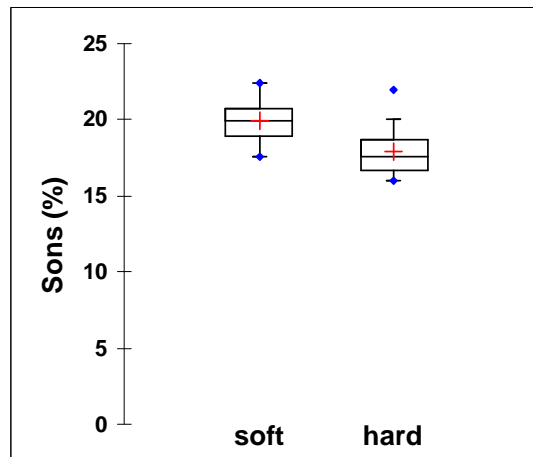


Figure 52: Variabilité du pourcentage de sons totaux obtenus à la fin de la mouture en fonction du type de dureté.

## II-1 Analyse du comportement en mouture eu sein des échantillons de type soft (Pina-D1a/Pinb-D1a)

L'intérêt de cette analyse est d'évaluer et d'hiérarchiser éventuellement les effets des caractéristiques des grains sur le comportement en mouture au sein d'une population d'échantillons ayant en commun la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a.

Une analyse de variance a donc été réalisée à partir des échantillons de type soft des lignées NILA et NILB (Tableau 27). Ce tableau a montré que l'année de récolte est le facteur majeur qui joue sur les paramètres du comportement en mouture de ces échantillons. En effet l'année de récolte des échantillons a présenté un effet très hautement significatif sur les pourcentages de productions de farines et de semoules, et sur les pourcentages de productions de sons. Elle présente également un effet hautement significatif sur l'aptitude à la réduction des fines semoules issues de ces échantillons, et sur leurs rendements en farine totale.

La lignée et le lieu de culture sont les autres facteurs qui jouent sur le comportement en mouture, mais leurs effets sur l'aptitude à la réduction des semoules ne sont pas significatifs.

Le niveau d'azote n'a pas d'effet significatif sur les paramètres du comportement en mouture.

Ces résultats montrent que, pour ces échantillons, la variation de l'aptitude à la réduction des fines semoules est essentiellement contrôlée par l'année de récolte, tandis que celle de l'aptitude à la réduction des grosses semoules ne semble pas contrôlée par les facteurs analysés. Le rendement en farine totale est fortement contrôlé par l'année de récolte et par le lieu de culture. Ce résultat confirme donc que les différences d'aptitude à la réduction des semoules, et de rendement en farine totale des échantillons de type soft sont fortement contrôlées par les conditions environnementales, plus particulièrement par l'année de récolte et le lieu de culture. Cependant, il est important de noter que ces résultats sont basés sur un

effectif d'échantillons ne représentant que 2 fonds génétiques distincts. Pour mieux comparer les effets des facteurs génétiques et environnementaux, et surtout avant de généraliser les résultats, il serait plus intéressant de faire cette étude avec un nombre plus élevé de fonds génétiques différents pour mieux tenir compte de variation.

Tableau 27: ANOVA des paramètres de mouture des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a, cultivées sur les lieux CF, EM, RE pour les récoltes 2007 et 2008. Les autres facteurs d'interactions non pas d'effets significatifs. \* ; \*\* ; \*\*\* : Significatifs aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%. Ns : non significatif. ns : non significatif

Source	DL	Farine B1	G Sem B1	Gsem	FSem	FCL/GSem	FC1/FSem	Sons	Rem	Rdt
Lignée	1	28,7**	8,4**	42,0**	21,9**	ns	ns	1,9*	ns	ns
Année	1	128,2***	91,5***	79,6***	274,5***	ns	698,8**	27,6***	ns	29,9**
Lieu	2	10,3*	15,3***	18,1**	21,6**	ns	ns	5,5***	ns	8,3*
Azote	1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Année*Cultivar	1	15,0*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Année*Lieu	2	7,6*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Par ailleurs, les effets très hautement significatifs de l'année de récolte et du lieu de culture sur les caractéristiques des grains avaient été montrés dans le chapitre précédent. Plus particulièrement l'année 2008 présentait des valeurs de dureté, de vitrosité, de PMG et de PS plus élevées que celles de 2007 (Tableaux 3 et 6). Le lien observé entre l'année de récolte, le lieu de culture et les paramètres de moutures pourrait donc s'expliquer par la variation de l'une ou l'autre des caractéristiques des grains étudié dans cette partie. Pour évaluer cette hypothèse une matrice de corrélation a été réalisée entre les caractéristiques des grains et les paramètres de mouture (Tableau 28).

Lors de l'étape de broyage B1 la dureté NIRS et la vitrosité semblent fortement corrélées positivement au pourcentage de grosses semoules produites, et négativement au pourcentage de farine produite. De même, les pourcentages totaux de grosses et fines semoules produites aux cours de la mouture sont positivement corrélés à ces 2 caractéristiques. Cependant les valeurs des coefficients de corrélations observées avec la dureté NIRS sont plus élevées que celles observées avec la vitrosité. La dureté NIRS semble donc être la caractéristique la plus fortement liée à ces aux paramètres de mouture.

Lors de la réduction des semoules la dureté NIRS est encore positivement corrélée aux pourcentages de farines produites à partir des grosses et fines semoules, tandis que la vitrosité est positivement corrélée au pourcentage de farine produite à partir des fines semoules. La corrélation entre la dureté NIRS et le pourcentage de farine produite à partir des fines

semoules est illustrée dans la figure 53. Elle permet en particulier de distinguer globalement les échantillons de la récolte 2008 caractérisés par des fortes valeurs de dureté NIRS et de pourcentages de farine produites à partir de fines semoules d'une part, et d'autres partir ceux de la récolte 2007 qui présentent de plus faibles valeurs.

Enfin, à la fin de la mouture, la dureté NIRS est positivement corrélée au rendement en farine totale (Figure 54) et négativement corrélée au pourcentage de sons produits alors qu'aucune corrélation significative n'est observée avec la vitrosité. La corrélation entre la dureté NIRS et le rendement en farine totale permet également de distinguer d'une part les échantillons de la récolte 2008 qui présentent de fortes valeurs de dureté NIRS et des rendements en farine totale plus élevés, et d'autre part ceux de la récolte 2007.

La dureté NIRS se révèle donc comme étant la principale caractéristique qui contrôle le comportement en mouture des échantillons de type soft. Elle semble favoriser d'une part la production des grosses et fines semoules lors des premières étapes de la mouture, et d'autre part le pourcentage de farine produite lors de la réduction de ces semoules en farine. Elle semble favoriser ainsi directement le rendement en farine totale.

La vitrosité semble également favoriser la production des semoules lors des premières étapes de la mouture, mais dans une moindre mesure par rapport à la dureté NIRS. Cependant elle ne semble pas affecter directement le rendement en farine totale. Par ailleurs, on observe que les coefficients de corrélation entre les vitrosités et les paramètres de mouture sont très proches de celles entre la dureté SKCS et ces paramètres de mouture. Cette observation semble confirmer le fait que la vitrosité et la dureté SKCS soient fortement liées.

Enfin, on observe que le PMG et le PS semblent être significativement corrélés aux paramètres de mouture tout comme la dureté NIRS et la vitrosité, mais avec des coefficients de corrélation globalement plus faibles. Cependant les coefficients de corrélations observés avec le PS semblent plus élevés que ceux observés avec le PMG. De plus, la forte corrélation négative observée avec les pourcentages de sons montre que ces 2 caractéristiques semblent défavoriser la production de sons, bien qu'elles ne semblent pas directement liées au rendement en farine totale.

Tableau 28: Corrélations entre caractéristiques de grains et paramètres du comportement en mouture des échantillons des lignées NILA et NILB de type soft (Pina-D1a/Pinb-D1a) sur les lieux CF, EM, RE et récoltes 2007 et 2008). Les valeurs sont les coefficients de corrélations *r*. ns : non significatif

Variabes	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Dureté SKCS
GSem B1 (%)	0,471*	0,642***	ns	0,800***	0,662***	0,635***
Farine B1 (%)	ns	-0,521**	ns	-0,695***	-0,724***	-0,756***
GSem (%)	0,545**	0,530**	ns	0,722***	0,542**	0,526**
FSem (%)	0,428	0,621	ns	0,814***	0,658***	0,664***
<b>FCL/GSem (%)</b>	<b>0,575**</b>	<b>0,598**</b>	<b>ns</b>	<b>0,531**</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>FC1/FSem (%)</b>	<b>ns</b>	<b>0,579**</b>	<b>ns</b>	<b>0,648***</b>	<b>0,528**</b>	<b>0,539**</b>
Sons (%)	-0,690***	-0,736***	ns	-0,878***	ns	ns
Rem (%)	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Rdt (%)	0,470*	0,485*	ns	0,639***	ns	ns

\*, \*\*, \*\*\*: Valeurs significativement différentes de 0 aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%.

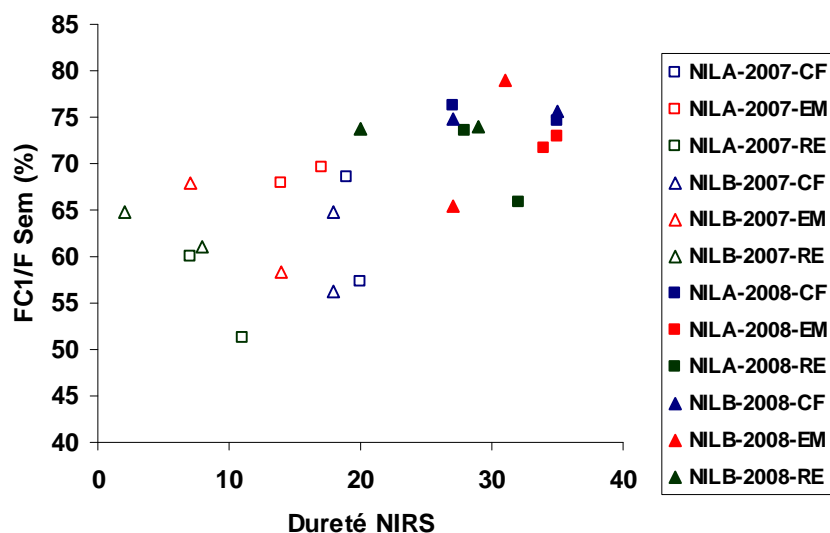


Figure 53: Effet de la dureté NIRS sur l'aptitude à la réduction des fines semoules des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a.  $r=0,648$ .

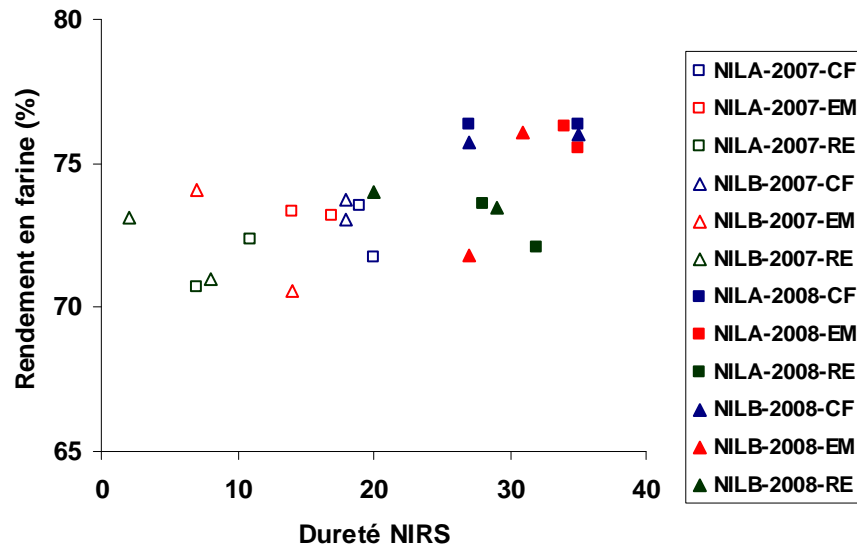


Figure 54: Effet de la dureté NIRS sur le rendement en farine totale des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a.  $r=0,639$ .

## II-2 Analyse du comportement en mouture des échantillons de type hard (Pina-D1a/Pinb-D1b).

Cette analyse vise également à évaluer et hiérarchiser les effets des caractéristiques des gains sur le comportement en mouture au sein d'une population d'échantillons ayant en commun la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b, et qui sont donc de type soft. Une analyse de variance a donc été réalisée dans un premier temps à partir des échantillons hard des lignées NILA et NILB, et les résultats sont présentés dans le tableau 29. L'année de récolte a présenté un effet très hautement significatif sur le pourcentage de farine et de grosses semoules produits au B1, sur les pourcentages totaux de grosses et fines semoules produites au cours de la mouture, sur le pourcentage de farine produit lors de la réduction des grosses semoules, sur le rendement en farine totale et sur le pourcentage de sons produits à la fin de la mouture. Le lieu de culture a également présenté des effets significatifs sur ces mêmes paramètres de mouture, mais avec de niveaux de significativités plus faibles que ceux de l'année de récolte. Le niveau d'azote a aussi présenté des effets significatifs sur la production de farine et de grosses semoules au B1, et sur les pourcentages totaux de grosses et fines semoules produites au cours de la mouture.

Enfin la lignée a essentiellement présenté un effet significatif le pourcentage de farine produite lors de la réduction des grosses semoules.

Cela confirme encore les effets déterminants des conditions environnementales, notamment ceux de l'année de récolte et du lieu de culture sur le comportement en mouture de ces



échantillons. Cependant, il est important de noter également que les 2 fonds génétiques analysés ici (NILA et NILB) ne sont pas suffisants pour mieux évaluer et comparer les effets des facteurs génétiques à ces des facteurs environnementaux.

Tableau 29: ANOVA des paramètres de mouture des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b cultivés sur les 3 lieux communs pour les récoltes 2007 et 2008. Les autres facteurs d'interactions non pas d'effets significatifs. ns : non significatif

Source	DL	Farine B1	G Sem B1	GSem	FSem	FCL/GSem	FC1/FSem	SONS	REM	RDT
Lignées (Q)	1	ns	ns	9,2*	6,9*	30,5***	ns	ns	ns	ns
Année (A)	1	40,3***	25,1***	48,7***	211,2***	92,6***	481,0*	21,0***	ns	51,7***
Lieu (L)	2	10,9***	5,7**	7,2*	12,9**	20,3***	ns	8,8***	ns	10,5*
Azote (N)	1	7,1**	7,0**	11,5**	12,4**	ns	ns	ns	ns	ns
A*Q	1	ns	3,2*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
A*L	2	4,3*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Q*L	2	ns	3,5*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
L*N	2	ns	0,148	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Une matrice des corrélations a été également réalisée pour évaluer les éventuels liens entre les paramètres de mouture et les caractéristiques des échantillons (Tableau 30). A l'étape du B1, la vitrosité et la dureté SKCS présentaient des corrélations positives avec le pourcentage de grosses semoules, et négatives avec le pourcentage de farine produite. Par contre, la dureté NIRS ne présentait pas de corrélation significative à cette étape. La vitrosité et la dureté SKCS présentaient également de fortes corrélations avec les pourcentages totaux de grosses et fines semoules produites au cours de la mouture, tandis que les corrélations avec la dureté NIRS étaient plus faibles. Lors de la réduction des grosses semoules, la vitrosité et la dureté SKCS étaient fortement corrélées négativement aux pourcentages de farine produite lors de la réduction des grosses semoules (Figures 55 et 56). La dureté NIRS était également significativement corrélée négativement à ce paramètre, mais la valeur du coefficient de corrélation était plus faible que ceux de la vitrosité et de la dureté SKCS.

Lors de la réduction des fines semoules, le pourcentage de farine produite était positivement corrélé à la dureté SKCS, et plus faiblement corrélé à la dureté NIRS.

Ces observations montrent que la vitrosité et la dureté SKCS sont les paramètres majeurs qui contrôlent les paramètres de mouture du B1, de la production et de la réduction des grosses et fines semoules. Elles favorisent la production de semoules lors des premières étapes de la mouture, et défavorisent la réduction de ces semoules en farine. Cependant elles ne semblent pas corrélées au rendement en farine totale, ni au pourcentage de sons produits.

Bien au contraire, ces 2 derniers paramètres semblent plutôt corrélés au PMG, au PS et à la dureté NIRS. Le rendement en farine totale serait ainsi positivement corrélé à ces caractéristiques tandis que le pourcentage de sons serait négativement corrélé.

Tableau 30: Corrélations entre caractéristiques de grains et paramètres du comportement en mouture des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b sur les lieux CF, EM, RE et 2 récoltes 2007 et 2008. \*, \*\*, \*\*\*: Valeurs significativement différentes de 0 aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%. ns : non significatif

Variabes	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	SKCS HI
G Sem B1 (%)	0,555*	0,595**	ns	ns	0,682***	0,575**
Farine B1 (%)	ns	ns	-0,405	ns	-0,855***	-0,846***
GSem (%)	ns	0,465*	0,451*	0,472*	0,792***	0,711***
FSem (%)	ns	0,575*	ns	0,527*	0,815***	0,873***
FCL/GSem (%)	ns	ns	ns	-0,502*	-0,772***	-0,831***
FC1/FSem (%)	ns	0,514*	ns	0,472*	ns	0,547**
Sons (%)	-0,794***	-0,770***	ns	-0,674***	ns	ns
Rem (%)	ns	ns	0,426	ns	ns	ns
Rdt (%)	0,749***	0,785***	ns	0,703***	ns	ns

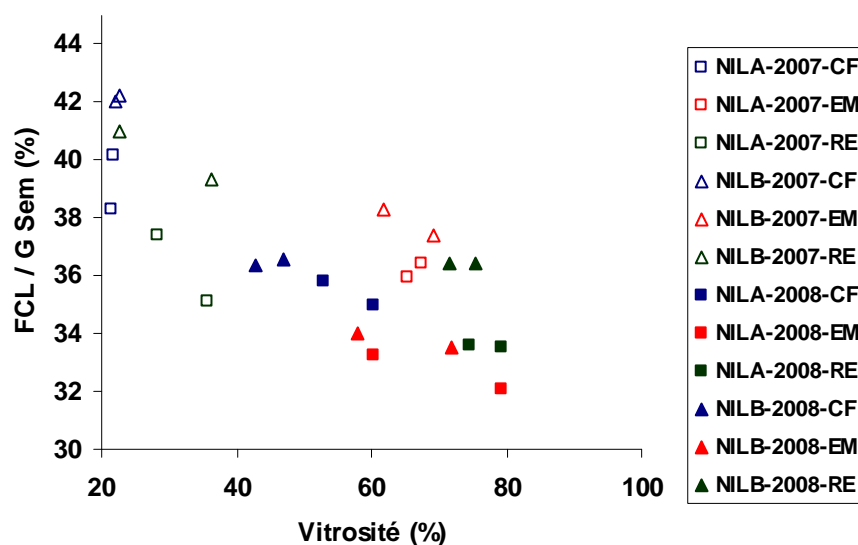


Figure 55: Relations entre vitrosité et aptitude à la réduction des fines semoules des échantillons des NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b.  $r = -0,772$ .

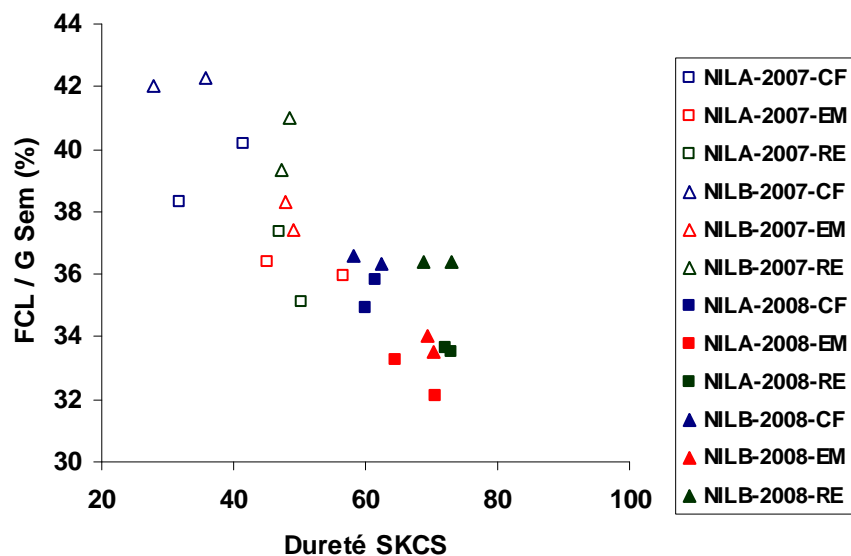


Figure 56: Relations entre dureté SKCS et aptitude à la réduction de l'albumen des échantillons des NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b.  $r = -0,831$

### III Discussions

Cette étude a permis d'évaluer les effets des facteurs génétiques (lignées NILA et NILB ; combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a et Pina-D1a/Pinb-D1b) et environnementaux (année de récolte, lieu de culture, niveau d'apport azoté) sur le comportement en mouture des grains de blé tendre. Les résultats ont montré des effets majeurs des facteurs génétiques par rapport aux facteurs environnementaux (Tableau 26). Parmi les facteurs génétiques, les effets des allèles génétiques semblaient plus forts que ceux du fond génétique. Cependant, seulement 2 fonds génétiques ont été comparés dans cette étude, ce qui est insuffisant pour tirer une conclusion générale. Il serait donc intéressant de conduire une étude similaire en incluant plusieurs fonds génétiques différents. Parmi les facteurs environnementaux étudiés, l'année de récolte a présenté des effets plus forts sur le comportement en mouture, suivi par le lieu de culture, puis enfin par le niveau d'azote.

L'étude a également permis d'établir des liens entre les caractéristiques des grains et le comportement en mouture. Ainsi, chez les hard comme chez les soft le pourcentage de farine produite au broyeur B1 était défavorisé par la dureté NIRS, la vitrosité et la dureté SKCS tandis que le pourcentage de grosses semoules du B1 et les pourcentages totaux de grosses et fines semoules produits au cours de la mouture étaient favorisés par ces mêmes caractéristiques. Cependant nous avons observé que la dureté NIRS semblait être le facteur le plus déterminant pour les soft tandis que la vitrosité et la dureté SKCS semblaient être plus déterminantes pour les hard.

Lors de la réduction des grosses et fines semoules, nous avons observé de fortes différences entre les hard et les soft (Tableaux 28 et 30). En effet, chez les **soft** le pourcentage de farine obtenue par la réduction des grosses semoules était **favorisé** par la **dureté NIRS** uniquement (Figure 57), alors que chez les **hard** ce même paramètre était **défavorisé** par la **vitrosité et la dureté SKCS**, et plus faiblement défavorisé par la dureté NIRS (Figure 58). Le lien négatif entre la vitrosité et le pourcentage de farine produite lors de la réduction des grosses semoules chez les hard avait été observé lors de l'analyse des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 dans la partie 1 de ce chapitre. Cela confirme que la vitrosité a un effet négatif sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules chez les hard. Par contre, c'est la première fois qu'un lien positif entre la dureté NIRS et le pourcentage de farine obtenu lors de la réduction des grosses semoules chez les soft est observé. Ce résultat suggère que chez les soft les fortes valeurs de dureté NIRS pourraient permettre d'augmenter l'aptitude à la réduction des grosses semoules.

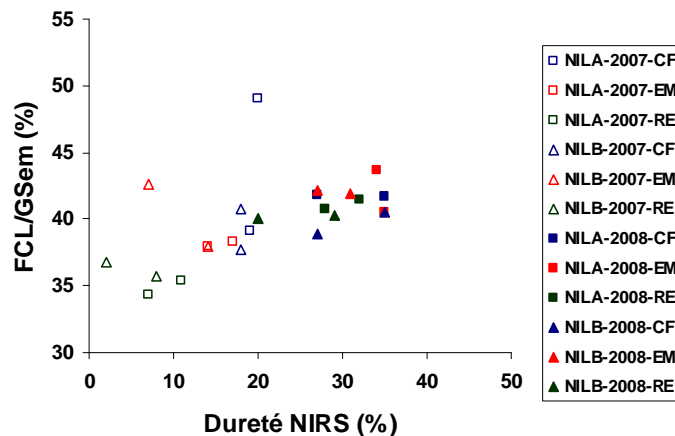


Figure 57: Relation entre la dureté NIRS des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leur aptitude à réduire les grosses semoules en farine

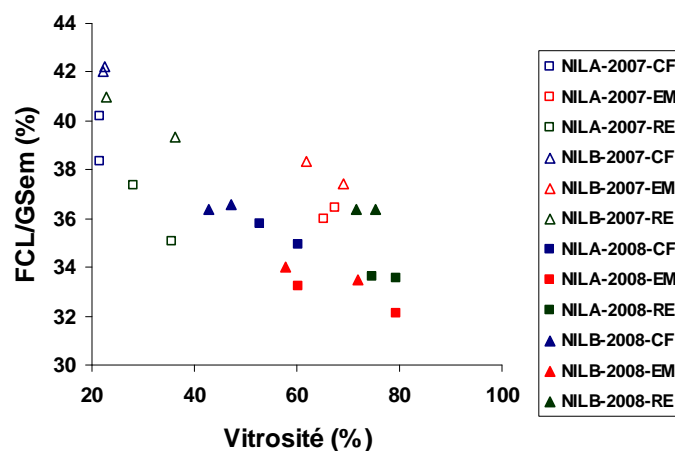


Figure 58: Relation entre la vitrosité des échantillons hard des lignées NILA et NILB et leur aptitude à réduire les grosses semoules en farine

Quant au pourcentage de farine obtenue lors de la réduction des fines semoules, il était favorisé par ces 3 caractéristiques chez les soft (Tableau 28) avec un effet plus fort de la dureté NIRS (Figure 59). La figure 59 souligne en particulier la forte contribution de l'année de récolte dans cette relation. En effet les échantillons de la récolte 2008 qui présentent les plus fortes valeurs de dureté NIRS ont tendance à présenter les plus fortes aptitudes à la réduction des fines semoules par rapport à ceux de la récolte 2007. Chez les hard, ce même paramètre de mouture semblait également favorisé par les dureté NIRS et SKCS, mais dans une moindre mesure par rapport aux soft (Tableau 30).

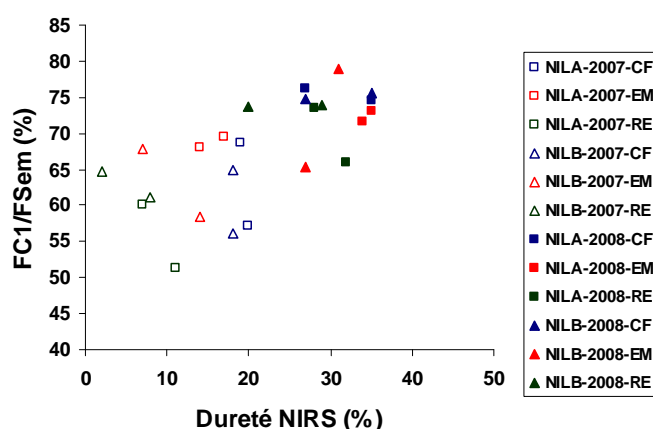


Figure 59: Relation entre la dureté NIRS des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leur aptitude à réduire les fines semoules en farine

A la fin de la mouture, chez les soft, le rendement en farine totale semblait fortement favorisé par la dureté NIRS (Figure 60) et plus faiblement par le PMG et le PS. Cependant la figure 60 souligne encore la forte contribution de l'année de récolte qui permet de distinguer globalement les échantillons de la récolte 2008 (caractérisés par des fortes valeurs de dureté NIRS et de rendement en farine totale) de ceux de la récolte 2007 caractérisés par les plus faibles valeurs.

Par contre chez les hard, en plus de la dureté NIRS (Figure 61) le rendement en farine totale semblait également favorisé par le PMG (Figure 62) et le PS. Ce résultat n'avait pas été observé dans la première partie de ce chapitre. Cependant les figures 61 et 62 permettent de suggérer que les différences de rendement observés que sont essentiellement liées aux fortes différences des caractéristiques des grains entre les récoltes 2007 et 2008. Mais il est difficile ici de distinguer la caractéristique dont l'effet est le plus déterminant sur le rendement.

Par ailleurs la figure 63 montre que chez les soft le rendement en farine totale est positivement lié au pourcentage de farine produite lors de la réduction des fines semoules (corrélation très hautement significative,  $r=0,791$ ). L'aptitude à la réduction des fines semoules, qui est positivement corrélé à la dureté NIRS, apparaît donc comme le paramètre de moulure le plus fortement lié au rendement en farine totale chez les soft.

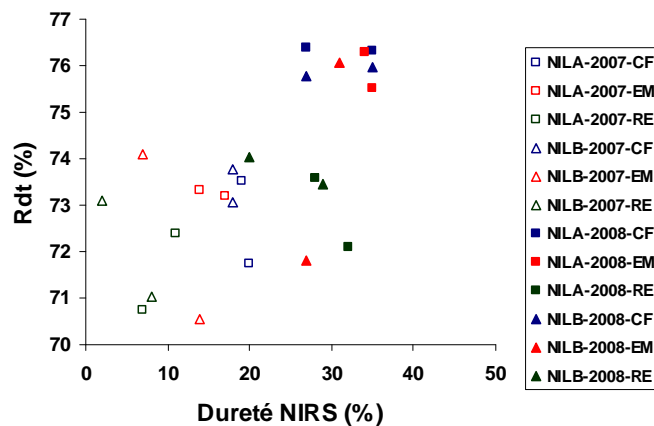


Figure 60: Relation entre la dureté NIRS des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leur rendement en farine totale

Le pourcentage de sons totaux semblait défavorisé par les dureté NIRS et, la PMG et le PS chez les hard comme chez les soft.

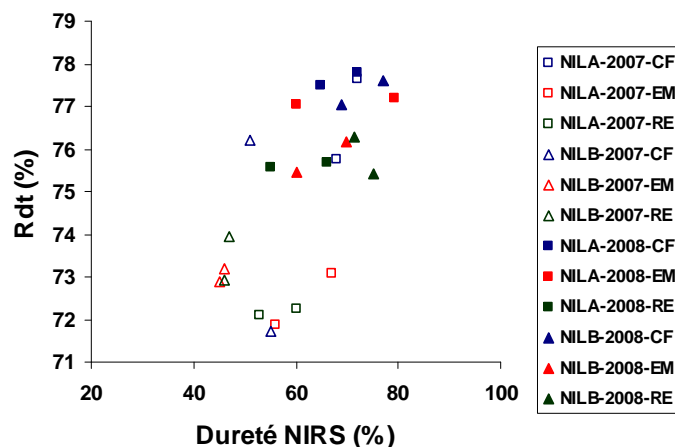


Figure 61: Relation entre la dureté NIRS des échantillons hard des lignées NILA et NILB et leurs rendements en farine totale

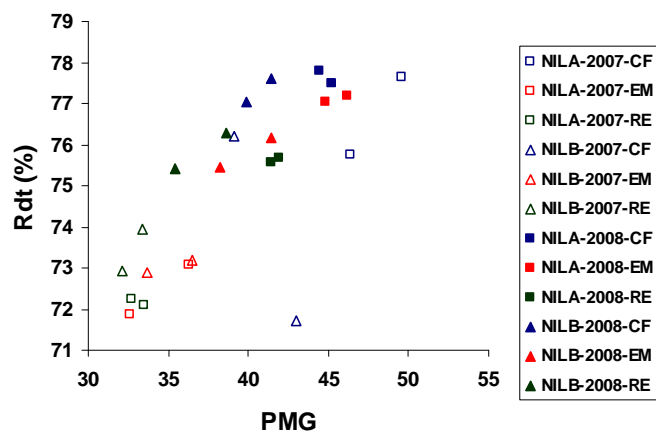


Figure 62: Relation entre le PMG des échantillons hard des lignées NILA et NILB et leurs rendements en farine totale

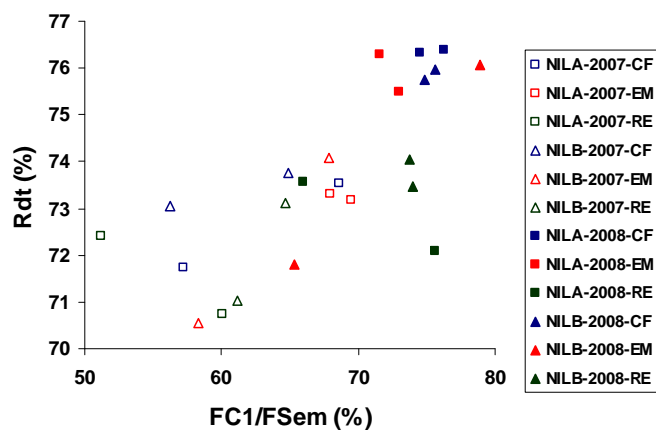


Figure 63: Relation entre l'aptitude à la réduction des fines semoules des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leurs rendements en farine totale

## Conclusion

- 1- La vitrosité et la dureté SKCS sont corrélées et ont les mêmes effets sur le comportement en mouture.
- 2- Pour les échantillons de type soft (portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a), l'aptitude à la réduction de l'albumen est mieux évaluée par l'aptitude à la réduction des fines semoules. Elle est positivement corrélée à la dureté NIRS, et semble expliquer jusqu'à 63% du rendement en farine totale.
- 3- Pour les échantillons de type hard (portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b) l'aptitude à la réduction de l'albumen est mieux évaluée par l'aptitude à la réduction des grosses semoules. Elle est négativement corrélée à la vitrosité et à la dureté SKCS.



## Synthèse du Chapitre 2

Dans ce chapitre, les effets des facteurs génétiques et agronomiques d'une part, et des caractéristiques des grains d'autre part sur certains paramètres du comportement en mouture ont été étudiés à l'aide de deux types de lignées quasi-isogéniques pour la dureté permettant de comparer les effets des combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a, Pina-D1a/Pinb-D1b, Pina-D1a/Pinb-D1d. Dans la partie 1 de ce chapitre, l'étude a été réalisée à partir des échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d et issus de 4 lieux de culture et 2 niveaux d'apport azoté de la seule récolte 2008. Dans la partie 2, l'étude a été basée sur les échantillons des lignées NILA et NILB portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (soft) et Pina-D1a/Pinb-D1b (hard) et issus de 3 lieux de culture communs, de 2 niveaux d'apport azoté, et des récoltes 2007 et 2008.

Les travaux de ce chapitre ont permis de confirmer les effets significatifs des facteurs génétiques et environnementaux sur les caractéristiques des grains et sur les paramètres du comportement en mouture. Cependant les effets des facteurs génétiques semblaient être plus déterminants par rapport à ceux des facteurs environnementaux. En plus, parmi les facteurs génétiques, l'effet du fond génétique semblait plus fort lorsque les échantillons analysés étaient tous de type hard, alors que l'effet du type de combinaison d'allèles de puroindoline semblait plus fort lorsque les échantillons étaient hard ou soft. Parmi les facteurs environnementaux, l'effet de l'année de récolte semblait plus fort par rapport à ceux du lieu de culture et du niveau d'azote.

Ce chapitre a aussi permis de confirmer que la dureté NIRS, la dureté SKCS et la vitrosité sont les principales caractéristiques des grains de blé qui contrôlent le comportement en mouture, et qui sont significativement corrélées à l'aptitude à la réduction de l'albumen lors de la mouture. Au sein des échantillons de type hard portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d, les corrélations significatives entre vitrosité et dureté SKCS d'une part, et l'aptitude à la réduction des grosses semoules d'autre part ont été mises en évidence dans les deux parties de ce chapitre. L'aptitude à la réduction des grosses semoules était négativement corrélée à la vitrosité et la dureté SKCS, mais positivement corrélée au rendement en farine totale. Cette aptitude à la réduction des grosses semoules contribuait à expliquer jusqu'à 50% du rendement en farine totale pour les échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 issus des 4 lieux de culture, et 2 niveaux d'apport azoté de la récolte 2008. Par contre l'étude à partir des échantillons des lignées NILA et NILB issues des

3 lieux de culture, 2 niveaux d'apport azoté et des récoltes 2007 et 2008 a montré que la variation des caractéristiques des grains en lien avec à l'année de récolte pouvait potentiellement masquer la corrélation entre le rendement en farine et l'aptitude à la réduction de l'albumen.

Au sein des échantillons de type soft (portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a) issus des récoltes 2007 et 2008, nous avons montré que les fortes valeurs de dureté NIRS pourraient favoriser l'aptitude à la réduction des fines semoules. De même, les fortes valeurs de dureté SKCS et de vitrosité semblaient favoriser l'aptitude à la réduction des fines semoules. En plus, cette aptitude à la réduction des fines semoules semblait contribuer à expliquer jusqu'à 63% du rendement en farine totale pour les échantillons de type soft des lignées NILA et NILB.

Nous avons également montré que la dureté NIRS était la caractéristique la plus fortement liée à l'aptitude à la réduction des fines semoules pour les échantillons de type soft, bien que la vitrosité et dureté SKCS soient également liées à ce paramètre de mouture.

Par ailleurs, les relations entre la masse volumique des grains, la vitrosité et la teneur en protéines ont été évaluées pour les échantillons analysés dans ce chapitre. Le tableau 31 que la masse volumique a été très fortement corrélée positivement à la vitrosité des grains ( $r \approx 0,850$  ;  $P < 0,001$ ), et plus faiblement corrélée à la dureté NIRS ( $0,487 < r < 0,610$ ). Mais curieusement, si la corrélation entre la masse volumique et la teneur en protéines a été significative pour les échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3, elle a plutôt été non significative pour les lignées NILA et NILB. Le lien entre la vitrosité et la masse volumique avait été mentionné dans plusieurs travaux antérieurs (Hnilica and Grundas 1992). De même les travaux de Stenvert et Kingswood (1977) ont suggéré que le degré de compacité de la matrice protéique pourrait être responsable des différences de densité et de dureté, et ont montré que cette compacité est influencée par les conditions environnementales, mais surtout déterminée par le cultivar. Or pour une même teneur en protéines il est possible d'observer différents niveaux de compacité de la matrice protéique, ce qui pourrai expliquer les différence de corrélation observées entre la masse volumique et la teneur en protéines.

Tableau 31: Valeurs de coefficients de corrélations  $r$  entre la masse volumique, la vitrosité et la teneur en protéines des grains

	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Teneur en protéines
Soft NILA et NILB (n=24)	0,610***	0,874***	ns
Hard NILA et NILB (n=24)	0,589**	0,854***	ns
NIL1, NIL2, NIL3 (n=48)	0,487***	0,887***	0,850***

## **Chapitre III : Etudes des bases biochimiques de la variabilité de l'aptitude à la réduction de l'albumen**

Le chapitre II a permis d'étudier les effets des facteurs génétiques et environnementaux, et ceux des caractéristiques des grains le comportement en mouture des grains en générale, et en particulier sur l'aptitude à la réduction de l'albumen des blés de type hard ou soft. Les différents effets de la dureté NIRS, de la dureté SKCS et de la vitrosité sur l'aptitude à la réduction des grosses et fines semoules en fonction du type de dureté (hard ou soft) ont été particulièrement précisés.

L'objectif du chapitre III est d'étudier les variations de la composition biochimique du grain de blé tendre en lien avec les caractéristiques de texture et l'aptitude à la réduction des grosses et fines semoules, et d'en tirer les conclusions. Les caractéristiques utilisées ici sont la dureté NIRS et la vitrosité. La dureté SKCS étant fortement corrélée positivement à la vitrosité, nous supposons qu'elle pourra être représentée par cette caractéristique.

Lors de la réduction des semoules en farine, l'albumen amylicé subit des forces de compression et de cisaillement qui entraînent des ruptures plus ou moins nombreuses en fonction de sa texture. Le mode de rupture de l'albumen amylicé a fait l'objet des plusieurs études de modélisation (Topin et al. 2007; Topin et al. 2008; Vincent et al. 2009). Ces études ont essentiellement permis de souligner les rôles des protéines qui constituent une matrice, des granules d'amidon qui baignent dans cette matrice protéique, des combinaisons d'allèles de puroindolines a et b qui contrôlent le type d'adhésion entre les granules d'amidon et la matrice protéique, et de la porosité de l'albumen qui est liée à la densité et qui représente les zones de faiblesse.

Dans ce présent travail visant à trouver les éventuels liens entre la variation de la composition biochimique de l'albumen et son aptitude à se réduire en farine, nous nous sommes intéressés aux paramètres suivants :

- La teneur globale en protéines (évaluée par la méthode de Kjeldahl)
- Les pourcentages relatifs, par rapport aux protéines totales, des gluténines, des gliadines, des albumines et globulines, et des fractions insolubles de protéines (évalués par la méthode de Morel et al, 2000)
- Les pourcentages volumiques relatifs des granules d'amidon de type A, B et C
- La teneur en puroindolines a et b présents à la surface des granules d'amidon
- Le taux d'amidons endommagés dans les farines issues de la réduction des semoules.

Ce chapitre comporte également 2 parties en fonction du type de dureté (hard ou soft) des échantillons utilisés. La première partie concerne les échantillons de type hard portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d. Dans cette partie les échantillons des lignées NIL1 et NIL2 qui présentaient les plus fortes différences d'aptitude à la réduction des grosses semoules (confère chapitre 2) ont été utilisés. En plus, 4 cultivars de blé hard portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b (Apache et Caphorn) et Pina-D1a/Pinb-D1d (Soissons et Orvantis), et présentant des différences d'aptitude à la réduction des grosses semoules ont été analysés en complément. Conformément aux résultats du chapitre 2, les grosses semoules issues du Broyage B1 de ces échantillons ont été utilisées pour représenter l'albumen amylicé.

La deuxième partie concerne les échantillons de type soft (portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a soft) : les échantillons de la lignée NILB portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a ont été analysés. Mais ceux de la lignée NILA ne l'ont pas été car comme montré au chapitre 1, les différences d'aptitude à la réduction des semoules entre ces 2 familles ne sont pas significatives. Des échantillons de 2 cultivars de blé de type soft (Crousty et Paledor) portant les allèles mêmes combinaisons d'allèle de puroindolines, et présentant des différences d'aptitudes à la réduction des semoules ont également été analysés.

Tous les échantillons analysés dans ce chapitre proviennent de la récolte 2008 qui présentait la plus grande variations de la vitrosité, et plus particulièrement des lieux Cappelle (présentant les plus faibles valeurs de vitrosité), et Maule (présentant les plus fortes valeurs). Le lieu Clermont-Ferrand présentant des valeurs intermédiaires de vitrosité a été également étudié.

## **Partie 1 : Etude des bases biochimiques de l'aptitude à la réduction de l'albumen des blés tendre de type hard (portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d**

### **I Résultats**

#### **I-1 Présentation des caractéristiques des grains étudiés, de leurs aptitudes à réduire les semoules en semoules en farine, et des taux d'amidons endommagés des farines issues de la réduction des semoules**

Les valeurs de dureté NIRS, de vitrosité, de dureté SKCS des échantillons analysés dans cette partie sont présentées dans le tableau 32. Les valeurs de dureté NIRS qui sont comprises entre 58,0 et 85,0 confirment que ces échantillons sont de type hard. Les valeurs de vitrosité qui sont comprises entre 8,7% et 83,2% montrent une forte variation malgré le fait que tous les échantillons soient de type hard. Les valeurs de teneur en protéines des grains varient entre 10,5 et 13,9.

Pour évaluer l'aptitude à la réduction de ces semoules, 500 g de chacun de ces grains ont d'abord été broyés au broyeur B1, et les grosses semoules issues de ce broyage ont été pesées puis réduites en farine lors d'une étape de claquage. Les pourcentages de farines issues de la réduction des semoules ont été calculés, et les valeurs sont présentées dans le tableau 32. Elles sont comprises entre 27,3% et 43,1%. Enfin, les taux d'amidons endommagés dans les farines issues de la réduction des grosses semoules ont été évalués et les valeurs varient entre 3,36% et 6,64% (tableau 32).

Tableau 32: Valeurs de dureté NIRS, de vitrosité, teneur en protéines, d'aptitude à la réduction des semoules en farine, et de taux d'amidons endommagés dans la farine issues de la réduction des semoules des échantillons analysés

Lignée	Allèles	Lieu	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Protéines Grains (%)	Aptitude à la réduction des grosses semoules en farine (%)	Amidon Endommagés (%ms)
NIL1	a/b	CA	80,0	37,2	12,4	33,3	5,33
NIL1	a/d	CA	69,0	31,3	13,1	36,1	4,62
NIL1	a/b	CF	87,0	66,5	12,3	27,3	6,32
NIL1	a/d	CF	80,0	61,7	12,8	28,8	5,92
NIL1	a/b	MA	80,0	73,2	14,1	24,8	6,11
NIL1	a/d	MA	65,0	65,8	13,9	27,3	6,26
NIL2	a/b	CA	71,0	25,6	11,3	39,9	4,28
NIL2	a/d	CA	62,0	23,4	10,5	43,1	3,73
NIL2	a/b	CF	77,0	48,6	10,7	33,2	4,88
NIL2	a/d	CF	85,0	36,6	11,0	33,4	5,45
NIL2	a/b	MA	84,0	63,4	12,3	33,9	5,20
NIL2	a/d	MA	77,0	63,0	12,4	33,1	5,37
Apache	a/b	CA	58,0	8,7	11,7	41,0	3,76
Apache	a/b	CF	66,0	21,0	12,3	42,6	3,36
Apache	a/b	MA	58,0	67,4	13,3	35,3	5,32
Caphorn	a/b	CA	71,0	8,8	12,5	38,9	3,98
Caphorn	a/b	CF	74,0	41,8	12,9	35,0	4,32
Caphorn	a/b	MA	80,0	83,2	13,7	28,4	6,16
Orvantis	a/d	CA	72,0	24,7	11,5	35,7	4,14
Orvantis	a/d	CF	84,0	66,7	12,8	29,5	6,42
Orvantis	a/d	MA	83,0	74,2	13,2	26,8	6,65
Soissons	a/d	CA	58,0	24,2	11,2	44,9	3,48
Soissons	a/d	CF	68,0	40,7	11,2	40,6	3,30
Soissons	a/d	MA	65,0	59,4	13,9	39,4	4,42

CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; MA : Maule ; a/b : Pina-D1a/Pinb-D1b ; a/d : Pina-D1a/Pinn-D1d.

### I-1-1 Sources de variation des caractéristiques et paramètres étudiés.

Les valeurs des paramètres étudiés ont fait l'objet d'une analyse de variance afin d'évaluer les effets des cultivars et lignées, des combinaisons d'allèles de Puroindolines, et du lieu de culture (Tableau 33). Contrairement au résultat obtenu dans le chapitre 2, l'effet des allèles de puroindolines ne semble pas significatif sur ces paramètres pour les échantillons étudiés dans cette partie. Cela pourrait probablement s'expliquer par le faible effectif de ces échantillons (24 échantillons). Cependant, on observe globalement des effets significatifs des cultivars et lignées, et du lieu de culture sur la variation de ces paramètres.

Les cultivars et lignées présentent en particulier des effets plus forts sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules en farines, et sur les taux d'amidons endommagés des farines issues de la réduction de ces semoules. Ils présentent également des effets significatifs sur la dureté NIRS et la vitrosité, mais pas sur la teneur en protéines.

Le tableau 34 présente les comparaisons des moyennes de ces paramètres en fonction des lignées et cultivars qui représentent le fond génétique.

L'effet des cultivars et lignées sur la dureté NIRS permet de les classer en 2 groupes : le premier groupe est formé par Orvantis, NIL1, NIL2 et Caphorn qui présentent les plus fortes valeurs de (79,7 ; 76,8 ; 76,0 ; 75,0 respectivement), le second groupe est formé par Soissons et Apache (63,7 et 60,7 respectivement) qui présentent les plus faibles valeurs.

L'effet des cultivars et lignées sur la vitrosité permet de les classer en 3 groupes : le premiers groupes est formé par NIL1 et Orvantis qui présentent les plus fortes valeurs (56,0% et 55,2% respectivement), le second groupe est formé par Caphorn, NIL2 et Soissons qui présentent les valeurs intermédiaires (44,6% ; 43,4% ; 41,4% respectivement), et troisième groupe est formé par Apache que présente la plus faible valeur (32,4%).

Le fort effet des cultivars et lignées sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules en farines permet de les classer en 3 groupes : le premier groupe est formé par Soissons et Apache qui présentent les plus fortes aptitudes (41,6% et 39,9% respectivement), le second groupe est formé par NIL2 et Caphorn qui présentent des valeurs intermédiaires (36,1% et 34,1% respectivement), et le troisième groupe est formé par Orvantis et NIL1 qui présentent les plus faibles aptitudes (30,7% et 29,6%) respectivement.

L'effet sur les taux d'amidon endommagé des farines permet de classer les cultivars et lignées en 2 groupes. Le premiers groupe est formé par NIL1 et orvantis et Caphorn qui présentent les plus forts taux d'amidons endommagés (5,8% ; 5,7% ; et 5,3% respectivement), le second groupe est formé par NIL2, Apache et Soissons qui présentent les plus faibles taux (4,8% ; 4,1% ; 3,7% respectivement).

Ces résultats soulignent par ailleurs que les échantillons présentant de fortes aptitudes à la réduction des semoules se caractérisent par de faibles taux d'amidons endommagés dans les farines produites, et inversement.

*Tableau 33: Effet du fond génétique (cultivar/lignée), des combinaisons d'allèles de puroindoline et du lieu de culture sur la dureté NIRS, la vitrosité, la teneur en protéines des semoules, sur l'aptitude à la réduction des semoules en farines et sur les taux d'amidon endommagés dans les farines des échantillons de NIL1 et NIL2 et 4 cultivars de type hard. Les valeurs sont les carrés moyens. \* ,\*\* ,\*\*\* : Significatifs aux niveaux de probabilité respectifs de 5%, 1%*

Source	DL	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Protéines des grains (% m.s)	Aptitude à la réduction des grosses semoules en farines (%)	Amidons Endommagés (%)
Cultivar/lignée	5	226,3*	301,4*	ns	87,0**	2,5***
Allèles	1	ns	ns	ns	ns	ns
Lieu	2	ns	4192,3**	5,8*	132,0**	3,9***

Tableau 34: Valeurs moyennes et écart-types de la dureté NIRS, de la vitrosité, et de la teneur en protéines des semoules, de l'aptitude à la réduction de l'albumen (ARA) et des taux d'amidons endommagés dans les farines des échantillons des 2 lignées et 4 cultivars. a, b, c : groupes homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%.

Variété	Statistique	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Protéines des grains (% m.s)	Aptitude à la réduction des grosses semoules en farines (%)	Amidons Endommagés (%)
NIL1	Moyenne (n=6)	76,8 b	56,0 c	13,1 b	29,6 a	5,8 b
	ET	7,5	15,8	0,7	3,9	0,6
NIL2	Moyenne (n=6)	76,0 b	43,4 b	11,4 a	36,1 b	4,8 a
	ET	7,8	16,2	0,7	3,9	0,6
Apache	Moyenne (n=3)	60,7 a	32,4 a	12,4 ab	39,6 c	4,1 a
	ET	3,8	25,3	0,7	3,1	0,8
Caphorn	Moyenne (n=3)	75,0 b	44,6 b	13,0 b	34,1 b	5,3 b
	ET	3,7	30,5	0,5	4,3	0,5
Soissons	Moyenne (n=3)	63,7 a	41,4 b	12,1 ab	41,6 c	3,7 a
	ET	4,2	14,4	1,3	2,4	0,5
Orvantis	Moyenne (n=3)	79,7 b	55,2 c	12,5 ab	30,7 a	5,7 b
	ET	5,4	21,8	0,7	3,7	1,1

L'effet du lieu de culture sur la vitrosité permet de distinguer d'une part les échantillons de Maule qui présente les valeurs les plus élevées, et d'autre part ceux de Cappelle qui présentent les valeurs les plus faibles. Ceux de Clermont-ferrand des valeurs plutôt intermédiaires (figure 64).

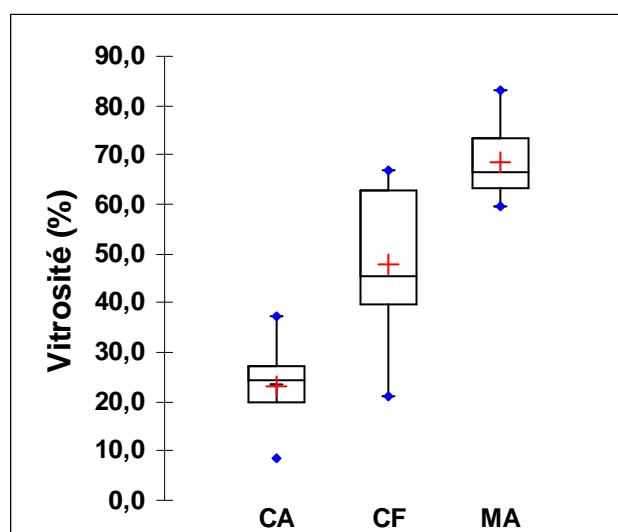


Figure 64 :

Figure 64 : Variation de la vitrosité des échantillons de type hard en fonction du lieu de culture



L'effet du lieu de culture sur la teneur en protéines permet de distinguer les échantillons de Maule qui présentent les plus fortes valeurs, de ceux de Cappelle et Clermont-Ferrand (Figure 65).

L'effet du lieu de culture sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules en farine permet de distinguer les échantillons de Cappelle qui présentent les plus fortes aptitudes, ceux de Maule qui présentent les plus faibles aptitudes, et ceux de Clermont-Ferrand qui présentent les aptitudes intermédiaires (Figure 66).

Enfin l'effet du lieu de culture sur le taux d'amidons endommagés des farines issues de la réduction des semoules permet de distinguer les échantillons de Maule qui présentent les plus forts taux, ceux de Cappelle qui présentent les plus faibles taux, et ceux de Clermont-Ferrand qui présentent des taux intermédiaires (Figure 67).

Ces observations suggèrent un lien entre la vitrosité, l'aptitude à la réduction de l'albumen, et taux d'amidon endommagés dans les farines issues de la réduction des grosses semoules. Ainsi, pour les échantillons de Maule, les faibles aptitudes à la réduction des grosses semoules et les forts taux d'amidon endommagés dans les farines issues de la réduction de semoules pourraient être liés aux fortes valeurs de vitrosité. Inversement, pour ceux de Cappelle, les fortes aptitudes à la réduction des grosses semoules et les faibles taux d'amidon endommagés seraient liés aux faibles valeurs de vitrosité. Ces résultats confirment ceux du chapitre II en ce qui concerne l'effet négatif de la vitrosité sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules chez les hard. Ils suggèrent également que lors de la réduction des semoules, les fissures qui traversent les granules d'amidon sont plus intenses chez les échantillons de fortes vitrosité par rapport à ceux de faibles vitrosité.

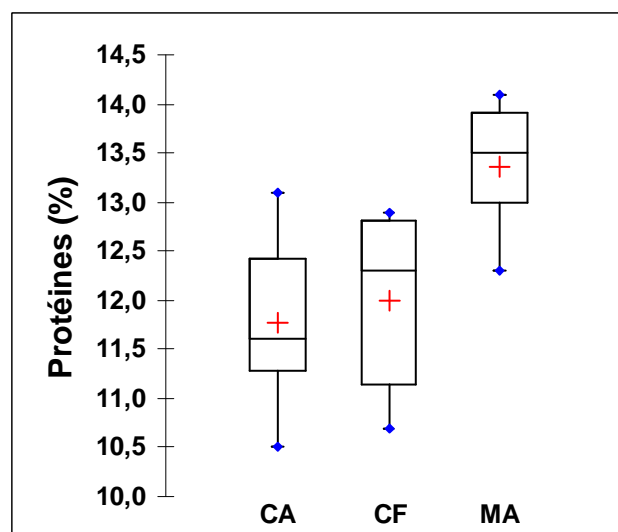


Figure 65: Variation de la teneur en protéines des échantillons en fonction du lieu de culture

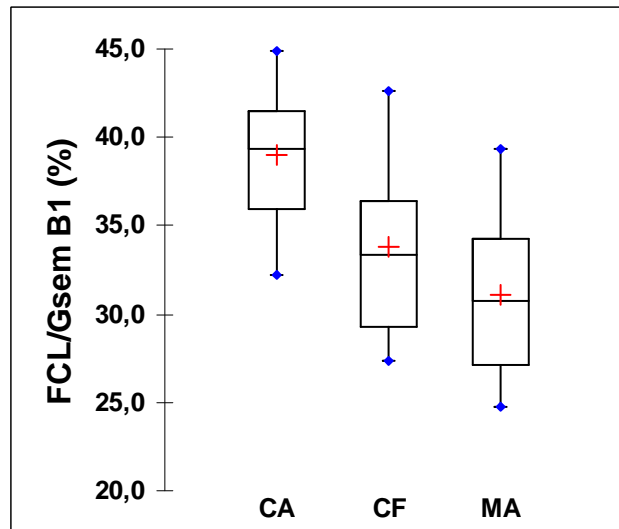


Figure 66: Variation de l'aptitude à la réduction des grosses semoules du B1 en fonction du lieu de culture

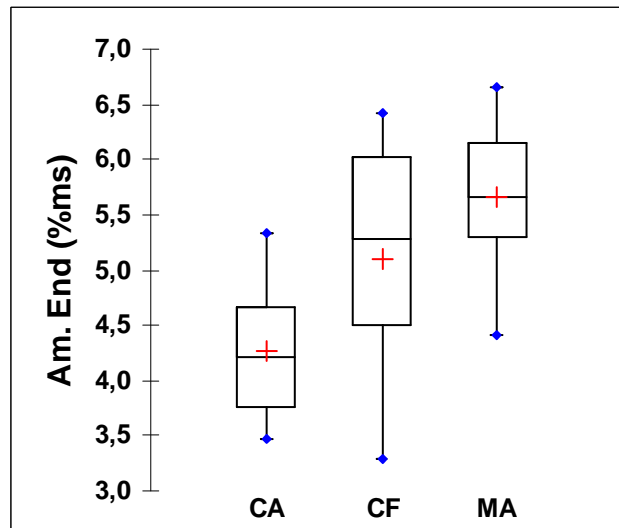


Figure 67: Variation du taux d'amidon endommagés en fonction du lieu de culture des échantillons

### I-1-2 Corrélations entre les paramètres des échantillons analysés

Le tableau 35 présente les coefficients des corrélations observés entre les paramètres des échantillons analysés. La forte corrélation entre la vitrosité et l'aptitude à la réduction des grosses semoules est confirmée ( $r=-0,800$ ). Cette corrélation est illustrée par la figure 68, qui montre par ailleurs que pour une même valeur de vitrosité on observe différentes valeurs d'aptitude à la réduction des grosses semoules en fonction des lignées ou cultivars.

La forte corrélation entre la vitrosité et le taux d'amidons endommagés ( $r=0,784$ ) est également confirmée. C'est la première fois qu'un lien entre la vitrosité et le taux d'amidons endommagés est observé parmi des échantillons de type hard.

La corrélation significative entre la teneur en protéines des grains et la vitrosité est également confirmée ( $r=0,625$ ), conformément aux résultats du chapitre 1. On observe également une corrélation significative entre la teneur en protéines et l'aptitude à la réduction de l'albumen ( $r=-0,572$ ) d'une part, et entre la teneur en protéines et le taux d'amidon endommagés dans les farines issues des grosses semoules ( $r=0,591$ ) d'autre part, en accord avec les travaux de modélisation du comportement à la rupture (Topin et al. 2007). On observe également une corrélation significative entre la dureté NIRS et la vitrosité ( $r=0,511$ ), et une très hautement significative entre la dureté NIRS et l'aptitude à la réduction des grosses semoules ( $r=0,723$ ) conformément aux résultats des chapitres I et II. Par ailleurs, le lien entre l'aptitude à la réduction des grosses semoules et le taux d'amidons endommagés est confirmé ( $r=-0,944$ ). Ce dernier résultat montre également que les fortes aptitudes à la réduction des semoules sont associées à une faible intensité des fissures traversant les granules d'amidon lors de la réduction des semoules. Dans ce cas les fissures pourraient se propager préférentiellement au travers de la matrice protéique si celle-ci est moins dense, ou à l'interface entre les granules d'amidon et la matrice protéique s'il y a une faible adhésion entre ces 2 constituants.

Tableau 35: Valeurs de coefficients de corrélation  $r$  entre les caractéristiques des grains, l'aptitude à la réduction des grosses semoules en farine et les taux d'amidons endommagés dans les farines. \* ; \*\* ; \*\*\* : valeurs significativement différents de 0 aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%.

Variables	Protéines (%)	Dureté NIRS	Vitrosité (%)	Aptitude à la réduction des grosses semoules en farine (%)
Dureté NIRS	ns			
Vitrosité (%)	0,625**	0,511*		
ARA (%)	-0,572**	-0,723***	-0,800***	
Amidons Endommagés (% m.s.)	0,591**	0,697***	0,784***	-0,944***

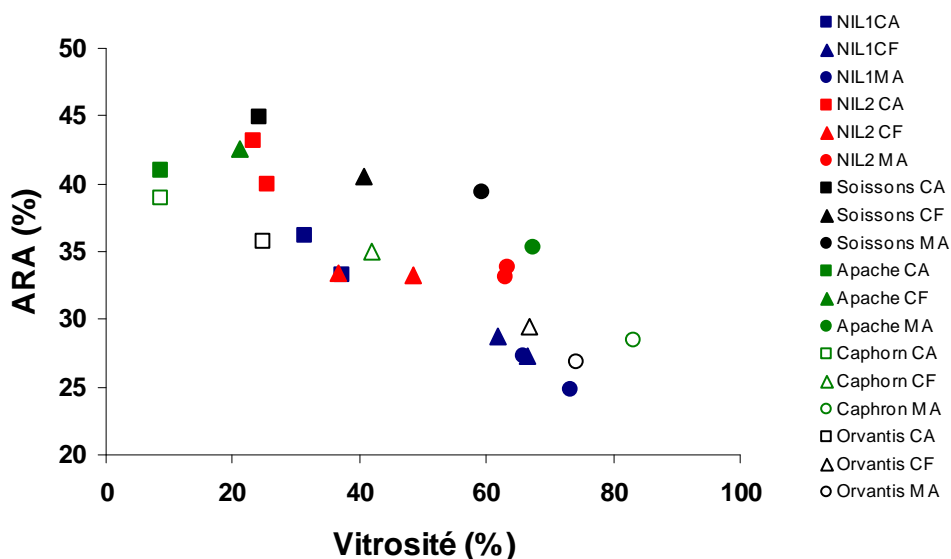


Figure 68: Relation entre la Vitrosité et l'aptitude à la réduction des grosses semoules des 2 lignées et 4 cultivars sur les lieux Cappelle (CA), Clermont-Ferrand (CF) et Maule (MA).  $R^2=0,640$

## I-2 Etude du rôle des principaux composés biochimiques des grosses semoules sur la variation de l'aptitude à la réduction des grosses semoules

Avant de réduire les grosses semoules produites après le broyage B1, un prélèvement a été effectué pour servir à la caractérisation des principaux composés biochimiques.

### I-2-1 Rôle de la variation des pourcentages relatifs de gliadines, de gluténines, d'albumines et globulines et de la fraction insoluble de protéines par rapport aux protéines totales

Les pourcentages relatifs des gliadines, glutenines, albumines et globulines, et de fraction insoluble par rapport aux protéines totales des grosses semoules ont été évalués par la méthode de Morel et al (2000). Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau de l'annexe 5. Dans ce tableau, les pourcentages des fractions insolubles de protéines (FI) sont aussi comptabilisés dans les pourcentages de gluténines. Les teneurs en protéines des grosses semoules étudiées sont aussi présentées dans ce tableau.

Une analyse de la variance a été réalisée pour évaluer les effets du fond génétique, de la combinaison d'allèles de puroindolines, et du lieu de culture sur la variation des pourcentages relatifs des composés de protéines (tableau 36). Cette analyse montre des effets non significatifs de ces sources de variations sur la teneur en protéines des grosses semoules.

Cependant, des effets significatifs du fond génétique et du lieu de culture sont observés sur les pourcentages relatifs des composés de protéines.

Tableau 36 : Effets de la lignée, de la combinaison d'allèle de Puroindolines et du lieu de culture sur la teneur en protéines totales et sur les teneurs en classes de protéines des semoules. \* ; \*\* ; \*\*\* : Significatifs aux niveaux de probabilité respectifs de 5%, 1% et 0,1%.

Source	DDL	Teneur en protéines (% m.s.)	Albumines & globulines (%)	Gliadines (%)	Gluténines (%)	FI (%)
Variété	5	ns	1,3	4,5**	4,9***	32,2***
Pinb	1	ns	ns	ns	ns	ns
Lieu	2	ns	7,7***	ns	9,5***	43,4***

Le fond génétique semble ne pas avoir d'effet significatif sur le pourcentage relatif de d'albumines et globulines. L'effet significatif du fond génétique sur le pourcentage relatif de gliadines se traduit par une valeur moyenne plus élevée pour NIL1 (47,1%), et des valeurs plus faibles pour Apache et Caphorn (44,4% et 44,5% respectivement). Cependant le classement des cultivars et lignées en fonction de leurs pourcentages relatifs de gliadines ne semble pas corrélée au classement en fonction des aptitudes à la réduction des fines semoules en farine.

L'effet significatif du fond génétique sur le pourcentage relatif de gluténines se traduit par des valeurs moyennes plus élevées pour Apache et Caphorn (36,3% et 36,2% respectivement) et plus faibles pour NIL2 et NIL1 (34,2% et 33,4% respectivement), les autres cultivars ayant des valeurs intermédiaires. Ce classement ne semble pas non plus corrélé à celui du fond génétique en fonction de l'aptitude à la réduction des semoules.

L'effet significatif du fond génétique sur le pourcentage relatif de fraction insoluble se traduit par des valeurs plus élevées pour Soissons et Caphorn (14,3% et 14,2% respectivement) et plus faibles pour Orvantis et NIL1 (9,3% et 7,1% respectivement). Ce classement semble proche de celui du fond génétique en fonction de l'aptitude à la réduction des grosses semoules, mais Caphorn présente un comportement particulier des ces classements. Ce résultat suggère que le pourcentage relatif de fraction insoluble de protéines des cultivars pourrait jouer un rôle dans l'aptitude à la réduction des grosses semoules en farine. Ainsi, les variétés ayant les plus forts pourcentages relatifs de fraction insolubles pourraient potentiellement présenter de fortes aptitudes à la réduction des grosses semoules. Cependant, le cas de Caphorn permet de suggérer que ce fort pourcentage de fraction insoluble ne suffit pas pour classer les cultivars en fonction de leurs aptitudes à la réduction des grosses semoules.

Tableau 37: Comparaison des valeurs moyennes de teneur en protéines et de pourcentages relatifs des classes de protéines. A, b, c : groupe homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%.

Variété	Statistique	Protéines des semoules (% m.s.)	Albumines (%)	Gliadines (%)	Gluténines (%)	FI (%)
NIL1	Moyenne (n=6)	11,8 a	19,5 a	47,1 b	33,4 a	7,1 a
	ET	0,8	0,5	0,7	0,9a	1,9
NIL2	Moyenne (n=6)	11,1 a	20,3 a	45,5 a	34,2	11,5 bc
	ET	0,5	1,0	0,5	1,3	2,4
Apache	Moyenne (n=3)	11,2 a	19,3 a	44,4 a	36,3 b	11,8 bc
	ET	0,3	0,9	0,4	0,5	1,6
Caphorn	Moyenne (n=3)	10,8 a	19,3 a	44,5 a	36,2 b	14,2 c
	ET	0,4	0,7	0,4	0,8	1,5
Soissons	Moyenne (n=3)	11,8 a	19,6 a	45,5 a	34,9 ab	14,3 c
	ET	0,4	1,8	0,2	1,9	3,6
Orvantis	Moyenne (n=3)	10,9 a	20,7 a	44,7 a	34,6 ab	9,3 ab
	ET	0,4	0,7	0,1	0,7	1,4

L'effet significatif du lieu de culture sur le pourcentage relatif d'albumines et globulines se traduit par une valeur moyenne plus élevée pour Cappelle (20,8%) et plus faible pour Maule (18,8%), celle de Clermont-Ferrand étant intermédiaire (19,9%) (Tableau 38). Ce classement semble positivement corrélé au classement des aptitudes à la réduction des grosses semoules en fonction du lieu. Ainsi les lieux de culture favorisant les forts pourcentages d'albumines et globulines pourraient aussi favoriser de fortes aptitudes à la réduction des grosses semoules. L'effet du lieu de culture sur le pourcentage relatif de gluténines se traduit par de fortes valeurs pour Maule et Clermont-Ferrand (35,7% et 34,9% respectivement), et plus faible pour Cappelle (33,4%). Ce classement qui est inversé par rapport à celui des pourcentages d'albumines et globulines, semble donc négativement corrélé à celui des aptitudes à la réduction des semoules en fonction des lieux. Ainsi les lieux favorisant les forts pourcentages de gluténines pourrait aussi défavoriser l'aptitude à la réduction de l'albumen. Enfin l'effet du lieu de culture sur le pourcentage relatif de fraction insoluble de protéines se traduit par une valeur moyenne plus élevée Maule (12,7%) et plus faibles pour Cappelle (8,1%), celle de Clermont-Ferrand étant intermédiaire (11,9%). Ce classement qui est positivement corrélé à celui des gluténines, semble négativement corrélé à celui des aptitudes à la réduction des grosses semoules en fonction des lieux. Les lieux favorisant les forts pourcentages de fraction insoluble de protéines pourraient aussi défavoriser l'aptitude à la réduction de l'albumen. L'effet du lieu de culture sur le pourcentage relatif de gliadines n'est pas significatif.

Cette analyse montre donc que les pourcentages relatifs des composés de protéines varient en fonction du fond génétique et du lieu de culture. Mais seule la variation du pourcentage relatif de fraction insoluble de protéines des cultivars et lignées pourrait être positivement corrélée à l'aptitude à la réduction des grosses semoules, tandis que les variations des pourcentages d'albumines et globulines, de gluténines et de fraction insoluble de protéines pourraient être corrélés à cette aptitude.

Par ailleurs, compte tenu de la forte corrélation négative observée entre la vitrosité et l'aptitude à la réduction des grosses semoules, nous avons évalué les relations entre la vitrosité et les pourcentages des composés de protéines. La figure 69 montre en particulier une corrélation négative entre la vitrosité et le pourcentage d'albumines ( $r=-0,57$ ). Cela montre que le pourcentage d'albumines et globulines baisse significativement lorsque la vitrosité augmente. Ce résultat est en accord avec celui de Gianibelli et al (1991) qui ont observé des proportions d'albumines plus élevées chez les grains farineux par rapport aux vitreux.

Tableau 38: Comparaison des valeurs moyennes de teneur en protéines et de pourcentages relatifs des classes de protéines. A, b, c : groupe homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%.

Variété	Statistique	Protéines des semoules (% m.s.)	Albumines (%)	Gliadines (%)	Gluténines (%)	FI (%)
Cappelle	Moyenne (n=8)	11,0 a	20,8 a	45,9 a	33,4 a	8,1 a
	ET	0,6	0,9	1,4	1,5	2,5
Clermont- Ferrand	Moyenne (n=8)	11,1 a	19,9 b	45,2 a	34,9 b	11,9 b
	ET	0,3	0,6	0,8	0,9	2,6
Maule	Moyenne (n=8)	11,8 a	18,8 c	45,5 a	35,7 b	12,7 b
	ET	0,7	0,7	0,9	1,2	3,1

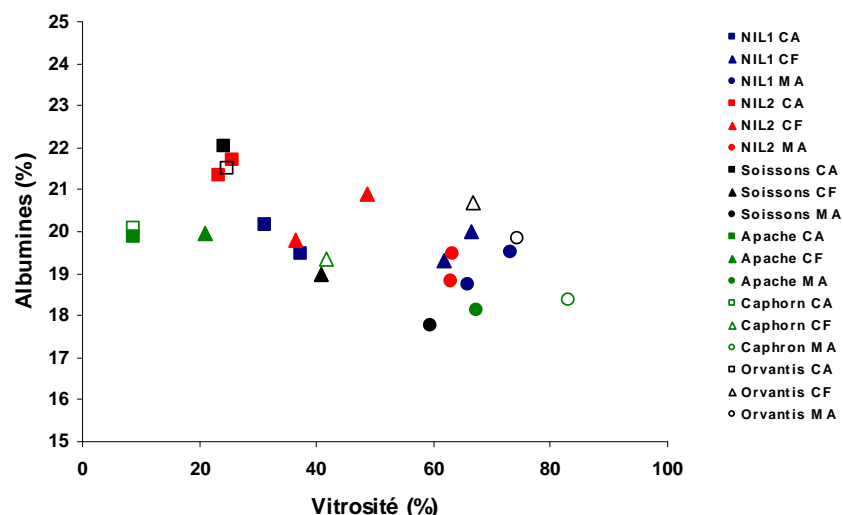


Figure 69: Relation entre vitreosité et pourcentage relatif d'albumines.  $R=-0,567$

De plus les figures 70 et 71 montrent qu'au sein de chaque fond génétique, la vitreosité est positivement corrélée au pourcentage de fraction insoluble de protéines, avec des coefficients de détermination compris entre 0,648 et 0,992. L'augmentation de la vitreosité au sein d'un même fond génétique pourrait donc être le résultat d'une augmentation de la fraction insoluble de protéines. Par conséquent les faibles aptitudes à la réduction des semoules observées pour les échantillons vitreux d'un même fond génétique pourraient être le résultat des forts pourcentages fraction insolubles de protéines.

Cependant, on observe que pour une même valeur de vitreosité les cultivars présentent différents pourcentages de fraction insoluble. En plus, les différentes pentes observées entre les différents fonds génétiques montrent que ces derniers réagissent différemment lorsque la vitreosité augmente.

La relation entre la vitreosité et le pourcentage relatif de gluténines est semblable à celui de la fraction insoluble. Ainsi, au sein d'un même fond génétique, la vitreosité pourrait généralement résulter des forts pourcentages de gluténines et de fraction insoluble de protéines, et de faibles pourcentages de d'albumines et gliadines.



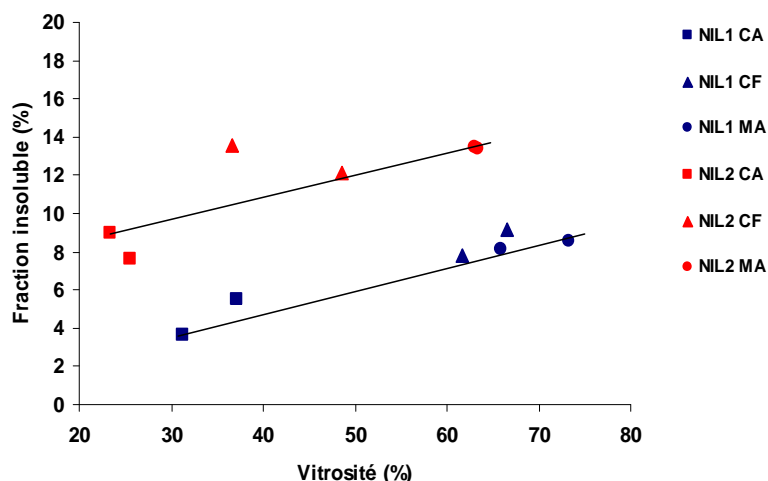


Figure 70: Relation entre vitrosité et pourcentage de fraction insoluble de protéines. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; MA : Maule. NIL1 :  $y = 0,118x + 0,5$  et  $r^2=0,922$  ; NIL2 :  $y = 0,117x + 6,4$  et  $r^2=0,648$

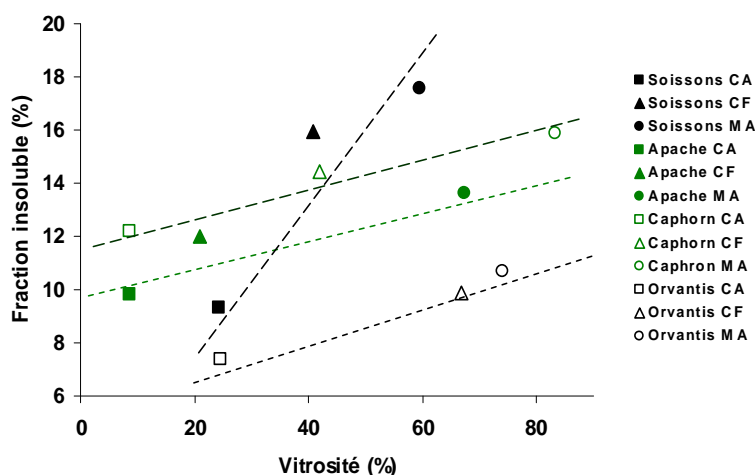


Figure 71: Relation entre vitrosité et pourcentage de fraction insoluble de protéines. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; MA : Maule : Apache :  $y=0,057x + 10,0$  et  $r^2=0,843$  ; Caphorn :  $y=0,049x + 12,0$  et  $r^2=0,964$  ; Soissons :  $y=0,231x + 4,7$  et  $r^2=0,867$  ; Orvantis :  $y=0,065x + 5,7$  et  $r^2=0,992$ .

Afin de mieux comprendre les différences variétales entre les fractions insolubles de protéines, l'analyse des tailles des agrégats de protéines contenus dans cette fraction a été abordée à partir des échantillons de Soissons, NIL1 et NIL2, pour les lieux Cappelle et Maule. Les résultats sont présentés dans la figure 72. Le cultivar Soissons présente les plus faibles poids moléculaires des agrégats de protéines dans la fraction insoluble. A l'inverse, NIL1 présentait les plus fortes valeurs de poids moléculaire. Ce résultat nous a permis de constater des différences de structure (poids moléculaire) et probablement de composition de la fraction insoluble de protéines en fonction des variétés. Ces différences pourraient

potentiellement jouer un rôle dans les différences d'aptitude à la réduction des grosses semoules observées entre les variétés : les variétés ayant des agrégats de protéines de faibles poids moléculaires pourraient présenter de fortes aptitudes, et inversement.

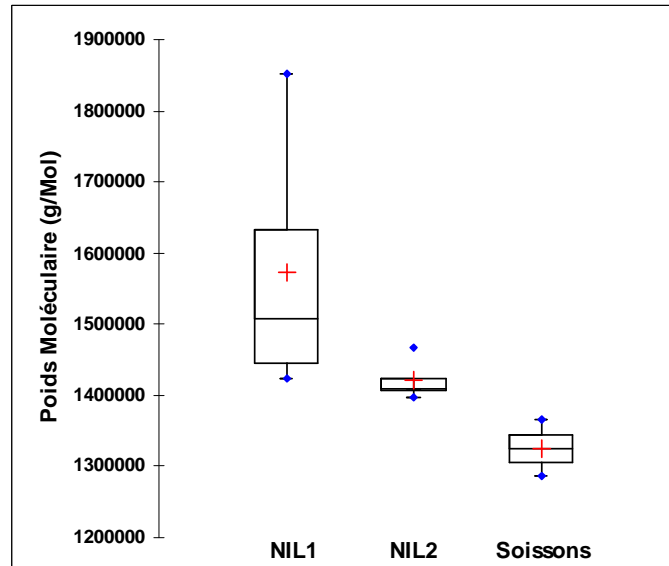


Figure 72: Variabilité des poids moléculaires des agrégats de protéines présents dans la fraction insoluble, en fonction de la variété.

### I-2-2 Rôle de la variation des pourcentages relatifs des granules d'amidon de type A, B et C.

Les granules d'amidon constituent un élément majeur de l'albumen du blé. De plus des travaux antérieurs ont mentionné des probables liens entre la distribution des tailles des granules d'amidon et le rendement en farine totale (Edwards et al. 2008; Edwards et al. 2010). Notre travail vise donc à évaluer l'éventuel lien entre la distribution des tailles des granules d'amidon sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules.

Les granules ont été extraits des grosses semoules et analysés en granulométrie. Les courbes de granulométrie des granules d'amidon ont présenté des pourcentages volumiques des granules d'amidon en fonction de leurs tailles. Ces courbes ont été modélisées (à l'aide du modèle mathématique décrit dans la partie 1 du chapitre 2) comme étant les sommes de 3 courbes de Gauss, correspondant aux granules de types A, B et C, comme identifiés dans les travaux antérieurs (Bechtel et al. 1990; Dai et al. 2009; Edwards et al. 2008; Raeker et al. 1998). Ainsi les granules de types A présentent des tailles supérieures à 16 $\mu$ m, ceux de type B présentent des tailles comprises entre 16 $\mu$ m et 5 $\mu$ m, et ceux de type C présentent des tailles comprises entre 5 $\mu$ m et 1  $\mu$ m. La modélisation des courbes de granulométrie a permis

d'obtenir les pourcentages volumiques des granules de type A, B et C des échantillons analysés (Annexe 6).

L'analyse de la variance (tableau 39) a montré que le lieu de culture et la combinaison d'allèles de puroidolines ne présentent pas d'effets significatifs sur les pourcentages volumiques des granules de types A, B et C. Par contre le fond génétique présente un effet significatif sur le pourcentage volumique de granules de type A conformément aux résultats des travaux antérieurs (Edwards et al. 2010; Raeker et al. 1998). Cet effet se traduit par des valeurs plus fortes de pourcentages volumiques de granules de type A pour NIL1, Caphorn et Orvantis (72,01% ; 71,1% et 71,1 respectivement) par rapport à NIL2, Soissons et Apache (64,3% ; 65,6% et 66,1% respectivement). Il est intéressant de noter que les cultivars présentant les plus faibles pourcentages volumiques de granules type A (Soissons, Apache et NIL2) présentent aussi de fortes aptitudes à la réduction des grosses semoules. L'effet du fond génétique sur le pourcentage volumique de granules de type A pourrait alors contribuer à expliquer les classement des aptitudes à la réduction des grosses semoules en fonction des cultivars. Cependant, l'absence de forte corrélation entre ces 2 classement suggère que le pourcentages volumique des granules de type A ne suffit pas à prédire le classement des variétés en fonction de leur aptitudes à la réduction des grosses semoules.

Tableau 39: Comparaison des pourcentages volumiques moyens des granules de types A, B et C des semoules. a, b : groupes homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%.

Variété	Statistique	Type A	Type B	Type C
NIL1	Moyenne (n=6)	72,0 b	16,5 a	11,5 a
	ET	3,1	4,8	4,7
NIL2	Moyenne (n=6)	64,3 a	20,7 a	15,0 a
	ET	5,5	7,6	3,6
Apache	Moyenne (n=3)	66,1 a	17,6 a	16,3 a
	ET	1,0	1,4	0,7
Caphorn	Moyenne (n=3)	71,1 ab	13,9 a	15,0 a
	ET	0,2	0,3	0,5
Soissons	Moyenne (n=3)	65,6 a	21,0 a	13,4 a
	ET	4,8	9,5	5,2
Orvantis	Moyenne (n=3)	71,1 b	14,0 a	14,0 a
	ET	1,2	1,0	1,2

### I-2-3 Rôle de la variation des teneurs en puroindolines a et b à la surface des granules d'amidon isolés des semoules

Les teneurs en puroindolines autour des granules d'amidon extraits des semoules ont été évaluées pour les échantillons de Cappelle et de Maule qui présentent les valeurs de vitrosité les plus contrastées. Les résultats sont présentés en annexe 7.

L'analyse de variance montre un effet significatif du fond génétique sur les teneurs en puroindolines a, b et a+b ; mais les effets de la combinaison d'allèles et du lieu de culture ne sont pas significatifs. Le tableau 40 montre la comparaison des teneurs en puroindolines a, b et puroindolines a+b autour des granules d'amidon en fonction des différents fonds génétiques. Les valeurs sont exprimées en mg/g de granule d'amidon.

Tableau 40: Comparaison des valeurs moyennes de teneur en puroindolines a, b et a+b des échantillons des cultivars et lignées étudiées. A, b, c, d : groupes homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%.

Variété	Statistique	PIN-A (mg/g)	PIN-B (mg/g)	PIN-A+PIN-B (mg/g)
NIL1	Moyenne (n=4)	1,44 a	0,34 a	1,78 a
	ET	0,16	0,04	0,16
NIL2	Moyenne (n=4)	1,93 a	0,34 a	2,27 a
	ET	0,07	0,01	0,05
Apache	Moyenne (n=2)	1,91 a	1,35 c	3,26 b
	ET	0,54	0,19	0,74
Caphorn	Moyenne (n=2)	3,94 b	2,75 d	6,69 d
	ET	0,29	0,79	1,08
Soissons	Moyenne (n=2)	3,50 b	0,39 a	3,90 bc
	ET	0,04	0,02	0,06
Orvantis	Moyenne (n=2)	3,77 b	1,10 b	4,87 c
	ET	0,39	0,22	0,61

L'effet du fond génétique sur les teneurs en puroindolines A a permis d'établir 2 groupes : D'une part NIL1, NIL2 et Apache qui présentent de faibles teneurs en PIN-A (1,44 mg/g ; 1,93 mg/g ; 1,91 mg/g respectivement), et d'autre part Soissons, Caphorn et Orvantis qui présentent des teneurs plus élevées (3,50mg/g ; 3,94 mg/g ; 3,74 mg/g). L'effet du fond génétique sur les teneurs en PIN-B a permis d'établir 2 groupes : NIL1, NIL2 et Soissons présentent les plus faibles teneurs en PIN-B (0,34 mg/g ; 0,34 mg/g ; 0,39 mg/g); tandis que Apache, Caphorn et Orvantis présentent des fortes teneurs (1,35 mg/g ; 1,75 mg/g ; 1,10 mg/g respectivement). Enfin, l'effet du fond génétique sur les teneurs en PIN-A+PIN-B a permis

d'établir 3 groupes : NIL1 et NIL2 présentent de faibles teneurs (1,78 mg/g; 2,27 mg/g respectivement), Apache, Orvantis et Soissons présentent des teneurs intermédiaires (3,26 ; 4,87 mg/g ; 3,90 mg/g respectivement), et Caphorn présentait la plus forte teneur (6,69 mg/g).

Mais on observe qu'aucun de ces classements n'est corrélé au classement fonds génétiques en fonction de leurs aptitudes à réduire la farine. Les différentes teneurs en puroindolines analysées ici ne permettent donc pas d'expliquer les différences d'aptitude à la réduction des grosses semoules des différents fonds génétiques.

## II Discussion

Les travaux de cette partie ont montré que lors de la réduction des grosses semoules en farine les échantillons présentant les forts pourcentages de farines sont aussi ceux qui ont de faibles taux d'amidons endommagés dans ces farines. Les taux de fissures traversant les granules d'amidon sont donc plus faibles pour ces échantillons, ce qui laisse penser que les fissures se propagent préférentiellement soit au travers de la matrice protéique, soit à l'interface entre les granules d'amidon et la matrice protéique.

Nous avons également montré que les échantillons présentant les fortes aptitudes à la réduction des semoules ont aussi les faibles valeurs de vitrosité. Cela montre que les faibles valeurs de vitrosité contribuent à réduire le taux de fissures traversant les granules d'amidon, et inversement.

D'une part les analyses de variances ont montré des correspondances entre le classement des aptitudes à la réduction des grosses semoules, et ceux des pourcentages de fraction insoluble de protéines et pourcentages de granules de type A en fonction du fond génétique. Les fonds génétiques présentant des fortes aptitudes à la réduction des grosses semoules ont aussi tendance à présenter des forts pourcentages de fraction insoluble de protéines, et des faibles pourcentages de granules de type A. Cette observation est difficile à expliquer, mais nous formulons quelques éléments de réponses qui sont les suivantes :

En ce qui concerne le lien entre l'aptitude à la réduction des semoules et le pourcentage de fraction insoluble de protéines, la nature des protéines composant cette fraction insoluble, essentiellement les sous-unités de gluténines de hauts poids moléculaires (HMW-glutenins), pourrait contribuer à ce lien. En effet plusieurs travaux antérieurs ont montré qu'il y a des différences variétales entre ces types de gluténines (Holt et al. 1981; Jiang et al. 2009; Nevo

and Payne 1987). En plus des liens entre les types de sous unités de gluténines et les propriétés de dureté (PSI) et d'élasticité des grains a été présenté dans les travaux (Figueroa et al. 2009). Ainsi, les différences de pourcentages volumiques observés entre les différents fonds génétiques pourraient simplement traduire des différences de composition en gluténines de haut poids moléculaire, qui peuvent jouer un rôle dans les différences d'aptitude à la réduction des grosses semoules.

En ce qui concerne le lien entre l'aptitude à la réduction des semoules et le pourcentage volumique des granules de type A, l'interface entre les granules d'amidon et la matrice protéique pourrait jouer un rôle important. En effet lorsque le pourcentage volumique de granules de type A (granules de grosses tailles) est élevé, les pourcentages des granules de types B et C (granules de petites tailles) sont faibles, ce qui peut être associé une faible interface entre les granules et la matrice protéique. A l'inverse, lors que le pourcentage volumique des granules de grosses tailles est faible, ceux de granules de petites tailles est plus élevé et l'interface entre les granules et la matrice protéique est alors plus importance. En plus si l'on considère que la présence des puroindolines a et b à cette interface fait qu'elle devient une zone de faiblesse lors de la réduction des grosses semoules en farine, on peut alors comprendre la correspondance entre les fortes aptitudes à la réduction des grosses semoules et les faibles pourcentages de granules de type A.

Ces deux hypothèses ainsi formulées pour tenter d'expliquer les différences variétales des aptitudes à la réduction des semoules peuvent aussi interagir entre elles.

D'autre part, les analyses de variance ont montré des correspondances entre le classement des aptitudes à la réduction des semoules, et celui de la fraction insoluble de protéines en fonction du lieu de culture. Pour un même fond génétique, les lieux de culture favorisant les fortes aptitudes à la réduction des semoules avaient aussi tendance à favoriser les faibles pourcentages volumiques de fraction insoluble de protéines. Le fond génétique étant le même, les différences de pourcentages volumiques de fraction insoluble de protéines observés ici ne peuvent que traduire les différences de concentrations. Ainsi, les fortes aptitudes à la réduction des semoules pourraient être le résultat de faibles concentrations en protéines insolubles, ce qui traduit une faible densité du réseau protéique. La propagation des fissures lors de la réduction des grosses semoules pourrait alors se faire facilement et préférentiellement au travers la matrice protéique, réduisant ainsi le taux d'amidons endommagés.

## **Partie 2 : Etude des bases biochimiques de l'aptitude à la réduction de l'albumen des blés tendre de type soft (portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a)**

Dans le chapitre 2 nous avons montré que l'aptitude à la réduction des fines semoules des blés de type soft est corrélée d'une part au rendement en farine totale, et d'autre part à la dureté NIRS. Nous avons aussi observé que la vitrosité et la dureté SKCS sont corrélées positivement à l'aptitude à la réduction des fines semoules, mais dans une moindre mesure par rapport à la dureté NIRS. L'objectif de cette partie est d'étudier les bases biochimiques de la variation de la dureté NIRS et de la vitrosité, afin de mieux comprendre les origines des différences de comportement en mouture des blés tendres. La nature de notre dispositif expérimental nous a conduit à obtenir un faible effectif d'échantillons de type soft, c'est pourquoi nous avons choisi faire les analyses de cette partie sur les échantillons de 3 différents fonds génétiques uniquement. Pour cela nous avons sélectionné les échantillons de type soft la lignée NILB (présentant le combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a), et les échantillons de 2 cultivars de blé de type soft connus par leurs différences de comportement en mouture : Crousty qui présente des rendements en farine totale et une aptitude à la réduction des semoules plus élevés, et Paledor qui présente de faibles rendements et aptitudes à la réduction des semoules. Ces échantillons sont tous issus de Cappelle, Clermont-Ferrand, et Maule de la récolte 2008.

Dans cette partie, seuls les rôles de pourcentages volumiques des granules de types A, B, C, et des pourcentages de gliadines, gluténines, albumines et globulines, et fraction insoluble de protéines ont été évalués. Tout comme pour les échantillons de type hard, ces analyses ont été faites sur des prélèvement de grosses semoules du broyés B1 avant leur réduction en farine.

### **I Relation entre l'aptitude à la réduction des grosses semoules et caractéristiques de dureté et de vitrosité des grains**

La relation entre la dureté NIRS et l'aptitude à la réduction des grosses semoules est d'abord présentée dans la figure 73. Elle montre une forte corrélation positive ( $r=0,803$ ), qui confirme le résultat observé précédemment dans le chapitre II. Elle montre surtout un classement des fonds génétique en fonction de leurs valeurs de dureté NIRS et d'aptitudes à réduire les semoules. Ainsi les échantillons de Crousty présentent des valeurs plus élevées de dureté NIRS et d'aptitude par rapport à ceux de Paledor et de NILB Pinb-D1a. Par ailleurs on

remarque que, bien qu'ayant des valeurs proches de dureté NIRS, les échantillons de Paledor présentent des valeurs d'aptitudes à la réduction des semoules plus élevées par rapport à ceux de NILB.

L'effet de la vitrosité sur l'aptitude à la réduction des semoules a également été évalué pour ces échantillons. Dans la figure 74 on observe qu'au sein de chaque variété l'augmentation de la vitrosité est associée à une augmentation de l'aptitude à la réduction des semoules. Mais pour une même valeur de vitrosité on observe des différences d'aptitude à la réduction des semoules entre les différents fonds génétiques. Ce résultat est le même que celui des échantillons de type hard. L'aptitude à la réduction de l'albumen des blés de texture soft semble donc liée à la fois à la Dureté NIRS et à la vitrosité.

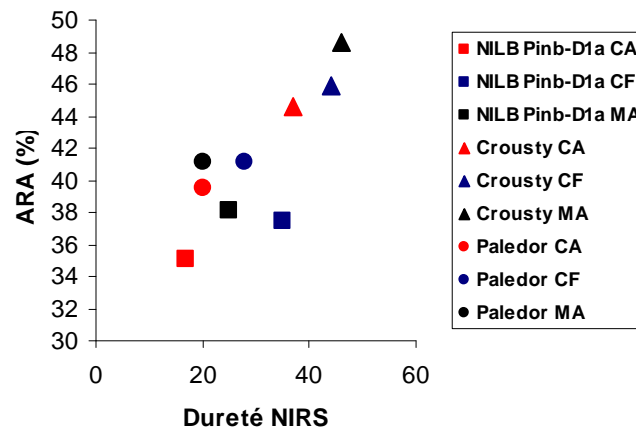


Figure 73: Relation entre la dureté NIRS et l'aptitude à la réduction des grosses semoules des blés de type soft (portant les allèles PinaD1a/Pinb-D1a).  $r=0,803$

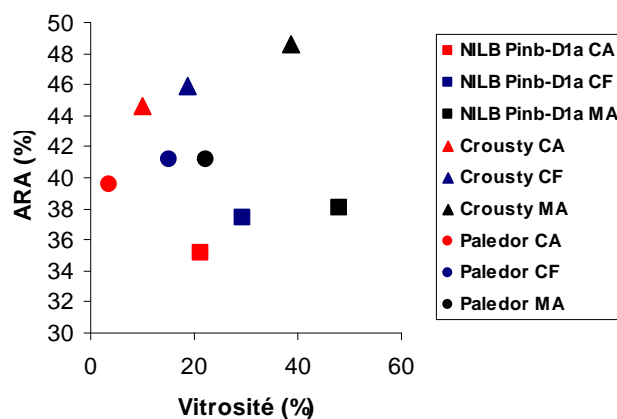


Figure 74: Relation entre vitrosité et Aptitude à la Réduction de l'Albumen des blés portant les allèles PinaD1a/Pinb-D1a.



II Etude du rôle de la variation des pourcentages volumiques des granules de type A, B, C, et des pourcentages de gliadines, gluténines, albumines et globulines, et fraction insoluble de protéines sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules

II-1 Rôle de la variation des pourcentages relatifs de gliadines, gluténines, albumines et globulines, et fraction insoluble de la matrice protéique

Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau 41. La relation entre la vitrosité et le pourcentage relatif de fraction insoluble est présentée dans la figure 75. Tout comme pour les échantillons de texture hard on observe une augmentation de la teneur en fraction insoluble lorsque la vitrosité augmente au sein de chaque variété. Par contre il semble apparaître une valeur seuil de vitrosité autour de 30% au dessus de laquelle le pourcentage de fraction insoluble semble se stabiliser. On observe également que pour des valeurs proches de vitrosité, Crousty semble montrer des pourcentages plus élevés de fraction insoluble de protéines.

Tableau 41: Valeurs de vitrosité des drains, teneurs en protéines des grosses semoules, pourcentages relatifs d'albumines, de gliadines, de gluténines et de fraction insolubles des grosses semoules. FI : Fraction insolubles.

Lignée	allèles	Lieu	Vitrosité (%)	Protéines G. Sem (% ms)	Albumines (%)	Gliadines (%)	Gluténines (%)	FI (%)
NILB	a/a	CA	21,4	11,2	22,8	43,7	33,5	10,5
NILB	a/a	CF	29,4	11,8	20,1	44,3	35,6	13,1
NILB	a/a	MA	48,2	11,7	20,7	44,6	34,7	13,0
Crousty	a/a	CA	9,9	12,2	20,2	45,4	34,3	9,0
Crousty	a/a	CF	18,7	11,4	18,9	43,6	37,5	13,2
Crousty	a/a	MA	38,7	10,7	18,8	44,0	37,2	13,5
Paledor	a/a	CA	3,5	12,5	17,6	49,2	33,3	6,3
Paledor	a/a	CF	15,2	12,0	18,5	48,4	33,1	8,3
Paledor	a/a	MA	22,2	10,6	16,4	47,7	36,0	11,6

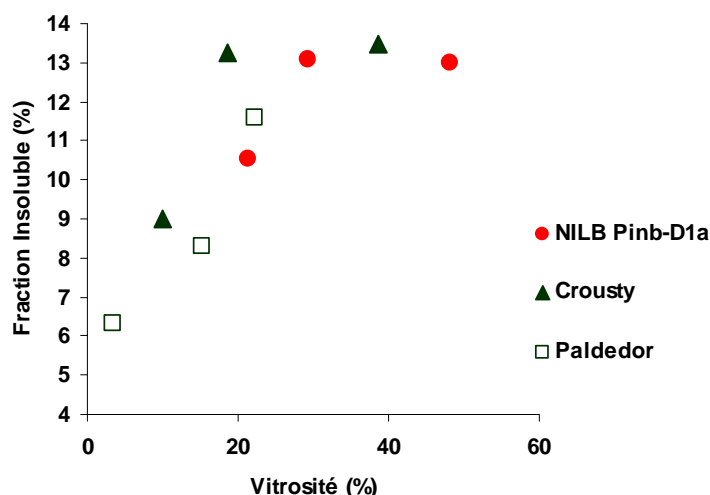


Figure 75: Relation entre vitrosité et fraction insoluble de protéines des échantillons portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a

## II-2 Rôle de la variation des pourcentages volumiques des granules d'amidon de types A, B et C.

Les résultats de l'analyse sont présentés dans le tableau 42. La figure 76 montre une corrélation significative et positive ( $r^2=0,683$ ) entre la dureté NIRS et les pourcentage volumique des granules de type C. Les fortes valeurs de dureté NIRS pourraient donc être reliées à des forts pourcentages volumiques de granules de type C (petites tailles).

Tableau 42: Valeurs de vitrosité des grains, ARA, pourcentages volumiques des granules de types A, B et C des échantillons analysés.

Lignée	Pinb	Lieu	Vitrosité (%)	ARA (%)	Type A (% Vol. )	Type B (% Vol. )	Type C (% Vol. )
NILB Pinb-D1a	Pinb-D1a	Cappelle	21,4	35,1	74,41	13,08	12,51
NILB Pinb-D1a	Pinb-D1a	Clermont-F	29,4	37,4	73,09	14,08	12,82
NILB Pinb-D1a	Pinb-D1a	Maule	48,2	38,1	74,22	13,85	11,93
Crousty	Pinb-D1a	Cappelle	9,9	44,6	71,25	12,76	15,99
Crousty	Pinb-D1a	Clermont-F	18,7	45,9	72,60	13,08	14,33
Crousty	Pinb-D1a	Maule	38,7	48,6	70,27	13,40	16,33
Paledor	Pinb-D1a	Cappelle	3,5	39,5	72,32	15,39	12,28
Paledor	Pinb-D1a	Clermont-F	15,2	41,2	75,11	11,78	13,10
Paledor	Pinb-D1a	Maule	22,2	41,2	73,52	14,47	12,01

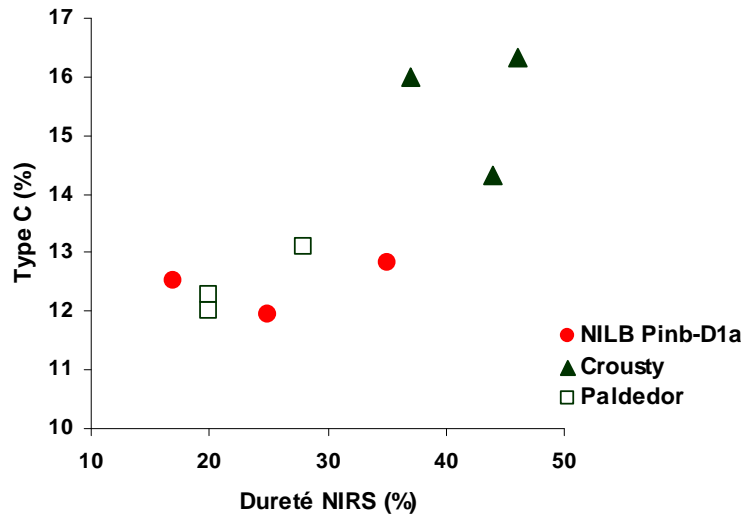


Figure 76: Relation entre dureté NIRS et pourcentage volumique des granules de type C.  $r^2=0,683$

### III Discussion

Dans ce travail nous avons montré que les variétés Crousty, Paldedor et la lignée NILB Pinb-D1a sont classées par leurs valeurs de dureté NIRS et d'aptitude à la réduction des grosses semoules. Le lien entre la vitrosité et le pourcentage de fraction insoluble de protéines observé chez les échantillons de type Hard a été également observé chez les soft. Nous avons aussi observé une valeur seuil de la vitrosité autour 30% qui semble plafonner l'augmentation du pourcentage de fraction insoluble autour de 13%. Mais si chez les hard l'augmentation du pourcentage de fraction insoluble est négativement corrélée à l'aptitude à la réduction des semoules, chez les soft la corrélation est plutôt positive.

Nous avons montré que de la dureté NIRS des échantillons analysés semble positivement corrélée au pourcentage volumique des granules. Ainsi, le pourcentage volumique de granule de type C est apparu positivement corrélé à l'aptitude à la réduction des semoules comme cela semble être le cas chez les hard.

## DISCUSSION GENERALE

Dans cette étude, deux types de lignées quasi-Isogéniques pour la dureté ont été étudiés :

- Les lignées NILA et NILB dont les échantillons diffèrent par les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a et Pina-D1a/Pinb-D1b au sein de chacune des lignées.
- Les lignées NIL1, NIL2 et NIL3 dont les échantillons diffèrent par les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d au sein de chacune des lignées.

Un dispositif expérimental, comportant 3 années de récolte et 7 lieux de culture par année, a été mis en place dans le but d'obtenir des échantillons présentant une large variabilité de la texture. Après la récolte les échantillons ont été caractérisés par leurs valeurs de dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines, PMG et PS.

### I Variabilité des caractéristiques de texture du grain

#### I-1 Variabilité de la Dureté NIRS

Les valeurs de duretés obtenues sur les 3 années de récoltes ont confirmé l'effet significatif des allèles de Pinb sur la texture des grains. En effet, les lignées NILA et NILB ont présenté des grains de texture soft correspondant aux échantillons portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a (Chantret et al. 2005; Giroux and Morris 1997) et hard correspondant aux échantillons portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b (Chantret et al. 2005; Giroux and Morris 1997). De même, les échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 ont présenté des échantillons de texture hard correspondant aux allèles combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b (Chantret et al. 2005; Giroux and Morris 1997) et Pina-D1a/Pinb-D1d (Chantret et al. 2005; Giroux and Morris 1997; Lillemo and Morris 2000). L'usage des combinaisons d'allèles de Puroindoline a permis de développer avec succès des lignées quasi-isogéniques pour la dureté présentant les textures souhaitées.

Pour les 2 types de lignée les analyses de variance ont montré qu'en plus des allèles de Puroindolines, la dureté NIRS était également contrôlée par le fond génétique. Ainsi les valeurs de dureté NIRS étaient en moyenne plus élevées pour la lignée NILA (45,0) par rapport à la lignée NILB (38,0). Ces valeurs étaient aussi plus élevées pour la lignée NIL3 (77,5) et plus faibles pour la lignée NIL2 (68,4), malgré le fait qu'elles proviennent d'un même croisement. L'effet de la lignée sur la dureté NIRS confirme qu'il y a d'autres parties du génome du blé qui interviennent dans l'expression de la dureté du grain (Breseghello et al. 2005; Campbell et al. 1999; Perretant et al. 2000; Sourdille et al. 1996; Turnbull and Rahman 2002; Turner et al. 2004; Zanetti et al. 2001).

L'analyse de la variance a aussi montré que les conditions environnementales, notamment l'année de récolte, le lieu de culture et le niveau d'apport azoté entraînent une importante variabilité des valeurs de la dureté NIRS. En particulier l'année 2008 a présenté les valeurs les plus élevées de dureté NIRS (46 en moyenne pour NILA et NILB) et l'année 2007 a présenté les valeurs les plus faibles (38 en moyenne pour NILA et NILB).

## I-2 Variabilité de la vitrosité

Nous avons pu montrer qu'au sein des lignées NILA et NILB, les valeurs de vitrosité étaient fortement contrôlées par les allèles de Pinb, avec des valeurs plus faibles pour la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a et plus élevées pour Pina-D1a/Pinb-D1b. Au sein des lignées NIL1, NIL2 et NIL3, les résultats ont montré une différence plus faible entre les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b (46%) et Pina-D1a/Pinb-D1d (43%), mais significative. Même si les travaux de Nelson et al. (1995) ont suggéré l'existence d'un lien entre la vitrosité et le locus Ha, c'est la première fois que les allèles de Pinb sont directement mis en relation avec des différences de vitrosité.

Cependant la variabilité de la vitrosité est apparue plus contrôlée par l'année de récolte et le lieu de culture, en accord avec les études antérieures qui ont mentionné les effets des conditions environnementales sur la vitrosité (Aucamp et al. 2006; Parish and Halse 1968; Weightman et al. 2008). L'effet du niveau d'azote sur la vitrosité a été également très hautement significatif en relation avec l'augmentation de la teneur en protéines dans les lots soumis à des apports azotés plus forts, en accord avec les résultats des études effectuées sur le blé dur (Abad et al. 2004; Dexter et al. 1989).

## I-3 Relation entre la dureté SKCS, dureté NIRS et la vitrosité

Les résultats de nos travaux ont montré que la dureté SKCS était très fortement corrélée à la vitrosité (coefficients de corrélation  $r$  autour de 0,901 pour les échantillons soft des lignées NILA et NILB, et 0,863 pour échantillons hard des lignées NILA et NILB et des lignées NIL1, NIL2 et NIL3), mais très faiblement corrélée à la dureté NIRS ( $r = 0,407$  et  $0,246$  respectivement). Ces résultats étaient surprenants puisque la dureté SKCS est souvent utilisée pour classer les blés de dureté contrastées (type soft et hard) même si certains auteurs ont déjà révélé l'existence de corrélations entre les valeurs de dureté SKCS et vitrosité sur le blé tendre ((Bettge and Morris 2000)  $r=0,930$  ; (Orucevic et al. 2008)  $r=0,7$ ), le blé dur ((Sissons

et al. 2000)  $r=0,99$ ) ou l'orge (Gamlath et al. 2008; Psota et al. 2008). De plus, les variabilités de la dureté SKCS et de la vitrosité ont été trouvées très similaires. Cette similitude entre les deux mesures pourrait être spécifique des échantillons analysés ou due au fait que dans les deux types de mesures les résultats d'analyses du lot prennent en compte une moyenne pondérée par classe de comportement ou de texture au sein de la population de grains. Ainsi les valeurs de la dureté SKCS sont également fortement contrôlées par les conditions environnementales comme la vitrosité.

La mesure de la dureté SKCS peut de ce fait sans doute se substituer à la mesure de la vitrosité qui est basée sur des observations visuelles de coupes de grain à l'aide du farinotome de Pohl et est ainsi plus subjective puisque potentiellement dépendante de l'opérateur. Toutefois, il est bon de noter que plusieurs travaux ont mentionné des méthodes de mesure de la vitrosité chez le blé dur, basées sur des mesures physiques ou sur l'analyse d'image (Neethirajan et al. 2007; Symons et al. 2003; Venora et al. 2009) .

#### I-4 variabilité de la teneur en protéines et la corrélation avec la vitrosité

Conformément aux travaux antérieurs sur blé dur et blé tendre, nous avons montré que la teneur en protéines dépend du niveau d'apport azoté, de l'année de récolte et du lieu de culture (Abad et al. 2004; Igrejas et al. 2001; Johansson 2000; Otteson et al. 2008; Souza et al. 2004; Triboi et al. 2000; Zhang et al. 2005). Mais si les corrélations entre la teneur en protéines et la vitrosité étaient très hautement significatives, les coefficients de corrélations obtenus sont faibles. Aucune valeur seuil de teneur en protéines séparant les échantillons vitreux des farineux n'a été observée, contrairement au cas du blé dur (Samson et al. 2005). En effet, pour des valeurs de teneur en protéines proches d'un même type d'échantillon, des vitrosités très contrastées (de 20% à 70% par exemple) ont pu être obtenues. Par contre nous avons pu montrer que pour une même teneur en protéines les échantillons hard avaient tendance à présenter des valeurs de vitrosité plus élevée (comprises entre 20% et 80%) que les échantillons soft (qui dépassent rarement les 50%). Ces résultats ont donc montré que la teneur en protéines ne suffit pas pour expliquer la variabilité de la vitrosité. La faible corrélation entre la teneur en protéines et la vitrosité avait été mentionnée par (Weightman et al. 2008). D'autres études ont été réalisées pour évaluer la relation entre la vitrosité et la répartition des classes de protéines chez le blé dur (ratio gliadines/gluténines (Dexter et al. 1989; Samson et al. 2005)). D'après ces études, la vitrosité serait plutôt liée à des différences de qualité des protéines.

## II Etude de la variabilité de l'aptitude à la réduction de l'albumen

### II-1 Au sein des échantillons soft des lignées NILA et NILB

Les résultats ont montré que les échantillons de blé soft présentaient des faibles pourcentages de grosses semoules, et des pourcentages élevés de fines semoules lors de la mouture. Les taux de production de fines semoules lors de la mouture sont apparus fortement corrélés à la dureté NIRS ( $r=0,814$ ), et corrélés plus faiblement à la vitrosité ( $r=0,658$ ) et à la dureté SKCS ( $r=0,664$ ). L'aptitude à la réduction de ces fines semoules a été également corrélée à la dureté NIRS ( $r =0,648$ ), ainsi qu'à la vitrosité ( $r= 0,528$ ) et à la dureté SKCS ( $r=0,539$ ). Aussi l'accroissement des valeurs de dureté NIRS principalement, de la vitrosité et de la dureté SKCS semble associé à un fort pourcentage de fines semoules et à un accroissement des valeurs d'ARA.

Dans une étude réalisée sur 7 cultivars de blés de type soft (Pina-D1a/Pinb-D1a) issus de la collection effectuée par les sélectionneurs, la corrélation hautement significative entre la dureté NIRS et l'aptitude à la réduction des fines semoules a été confirmée à l'aide de 35 échantillons issus de 5 lieux distincts des récoltes 2007 et 2008 (Tableau 41). La dureté NIRS, constitue donc le principal facteur qui contrôle l'ARA chez les soft. Cependant bien que hautement significatif, le coefficient de corrélation entre la dureté NIRS et l'ARA est faible ( $<0,648$ ).

Tableau 43: Coefficients de corrélation  $r$  entre les caractéristiques des grains et paramètres du comportement en mouture.  $n=35$  ; 2 années (2007 et 2008) ; 7 cultivars (Astuce, Crousty, Innov, Paledor, Ressor, Robigus, SC 4013) ; 5 lieux (CF ; CH ; LO ; MA ; OR) ; Azote N et N+. \* ; \*\* ; \* : Significatifs aux niveaux de probabilité respectifs de 0,05 ; 0,01 ; 0,001. ns : non significatif.

Variables	Dureté SKCS	PS (Kg/Hl)	Protéines (% m.s.)	Dureté NIRS	F CL / G Sem (%)	F C1/ F Sem
PS (Kg/Hl)	ns					
Prot( % MS)	ns	ns				
Dureté NIRS	ns	ns	ns			
F CL / G Sem (%)	ns	ns	ns	ns		
F C1/ F Sem	ns	ns	ns	0,509**	ns	
% RDT total	ns	ns	ns	ns	0,367*	0,629***

### II-2 Au sein des échantillons hard des lignées NILA et NILB

Il a été montré que les échantillons hard produisaient des forts pourcentages de grosses semoules, et des pourcentages de fines semoules relativement faibles (par rapport aux échantillons soft). Les pourcentages de grosses semoules ont été corrélés positivement à la

vitrosité ( $r=0,792$ ) et à la dureté SKCS ( $r=0,711$ ) d'une part, et d'autre part l'aptitude à la réduction des grosses semoules a été fortement corrélée négativement à la vitrosité ( $r=-0,772$ ) et à la dureté SKCS ( $r=-0,831$ ). Ces deux caractéristiques constituent donc les principaux facteurs qui contrôlent l'ARA chez les hard.

### II-3 Contribution de l'aptitude à la réduction des semoules au rendement en farine totale

Cette étude a montré que chez les hard l'aptitude à la réduction des grosses semoules contribuait à expliquer jusqu'à 50% du rendement en farine des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008. Pour les échantillons hard des lignées NILA et NILB l'année de récolte semblait influencer fortement sur la relation ARA – rendement en farine. Chez les soft des lignées NILA et NILB, l'aptitude à la réduction des fines semoules contribuait à expliquer jusqu'à 63% du rendement en farine totale.

### III Etude du lien entre variabilité de l'aptitude à la réduction des semoules et variabilité des composés biochimiques majeurs

#### III-1 Etude chez les échantillons hard portant les combinaisons d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d.

Etant donné le rôle majeur joué par la vitrosité dans l'aptitude à la réduction de l'albumen chez les blés de type hard, ainsi que l'effet des allèles de Pinb sur le niveau de vitrosité, il a été recherché si ces différences de vitrosité pouvaient être reliées à des différences de structure ou de composition de la matrice protéique et/ou des granules d'amidon ou de l'interface amidon/réseau protéique. Ainsi les échantillons des lieux Cappelle (échantillons farineux) et Maule (échantillons vitreux) ont été particulièrement comparés. Les résultats ont permis de formuler les hypothèses suivantes :

1- L'effet du lieu de culture se traduirait par des modifications des niveaux de vitrosité et de densité de l'albumen (comme confirmé par les mesures de masse volumique des échantillons) qui semblent associés ( $0,648 < r < 0,992$ ) à un changement du pourcentage relatif de fraction insoluble de protéines. Une augmentation de la vitrosité et de la densité de l'albumen des grains pourrait ainsi être associée à une augmentation de la réticulation du réseau protéique qui se traduirait par une aptitude plus faible de l'albumen à la réduction au cours du procédé de mouture. Cependant, si ce rôle de la structure de l'albumen sur son aptitude à la réduction en lien avec les conditions de culture est avéré, des différences



d'aptitude entre variétés qui ne dépendent pas seulement des différences dues aux allèles de Pinb ont été observées. En effet, si les lignées quasi-isogéniques pour la dureté portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b montrent des comportements à la rupture de l'albumen plus faibles que à celles portant la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d du fait d'une vitrosité plus importante, nous avons pu observer qu'une variété comme Soissons par exemple montre une plus grande aptitude à la réduction de l'albumen, de ces grains pour une vitrosité équivalente. Or les différences entre génotype ne peuvent s'expliquer par un niveau de réticulation plus faible des protéines puisque Soissons au contraire présente les taux les plus élevés en comparaison des autres variétés même sur des lieux où les grains sont farineux ( $\approx 30\%$ ) L'effet du génotype sur l'aptitude à la réduction des grosses semoules pourrait potentiellement s'expliquer :

- Par les tailles des agrégats de gluténines de haut poids moléculaires qui pourraient être associés aux types de sous-unités de gluténines. Les faibles tailles des agrégats de gluténines de haut poids moléculaires étant associés à une faible rigidité de l'albumen amylicé. Mais trop peu d'échantillons ont été analysés dans cette étude pour permettre de conclure.
- Par la distribution en taille des granules amidon. En effet les variétés présentant une aptitude plus grande à la fragmentation de l'albumen sont aussi celles qui contiennent le plus faible pourcentage volumique de granules de type A.

### III-2 Etude chez les échantillons soft

Contrairement au cas des hard, la vitrosité a été positivement corrélée à l'aptitude à la réduction des semoules chez les soft. L'étude chez les soft a été abordée par l'analyse de la variabilité des tailles des granules d'amidon, de la teneur en classes de protéines dans les grosses semoules. Tout comme chez les échantillons de type hard, le lien entre le pourcentage relatif de fraction insoluble de protéines et la vitrosité a été observé au sein de chaque variété. Mais si les résultats semblent permettre de formuler l'hypothèse de l'association des fortes valeurs de dureté NIRS à des forts pourcentages volumiques de granule de type C, le faible effectif des échantillons analysés (9 échantillons) ne nous permet pas de conclure. Par ailleurs, compte tenu des travaux de Bettge et Morris (2000) il serait intéressant d'étudier le lien entre les teneurs en arabinoxylanes pariétaux et en protéines d'une part, et la dureté NIRS d'autre part.

Enfin, dans cette partie l'étude a été faite sur les grosses semoules alors que les résultats du chapitre II montrent l'importance de l'aptitude à la réduction des fines semoules pour les

échantillons de type soft. Il serait donc important d'étudier également les fines semoules, et de comparer les résultats à ceux déjà obtenus sur les grosses semoules.

### III Etude de la séparabilité entre l'amande et les enveloppes

Les résultats du chapitre II ont montré que l'aptitude à la réduction des semoules expliquer jusqu'à 50% du rendement en farine chez les hard et jusqu'à 63% chez les soft. La séparabilité entre l'amande et les enveloppes constitue une des 3 étapes de l'étude de la valeur meunière, et permet d'expliquer également une partie du rendement en farine totale. Cependant d'autres facteurs jouent également sur ce rendement comme la séparabilité entre l'amande et les enveloppes et la friabilité des enveloppes, points que nous n'avons pu aborder dans cette étude. Cependant nous avons évalué si la modification de la vitrosité de l'albumen pouvait influencer sur la séparabilité entre l'amande et les enveloppes en quantifiant le taux d'amidon résiduel dans les gros sons issus de la mouture.

Cette étude a été amorcée par le dosage des amidons totaux dans les gros sons issus de la mouture de quelques échantillons hard (NIL1, NIL2 et Soissons) sur les lieux Cappelle (farineux) et Maule (vitreux). Les analyses ont montré que les échantillons farineux présentaient des taux d'amidon dans les sons plus élevés par rapport aux échantillons vitreux (Figure 77). Ce résultat semble comparable à celui obtenu quand on compare les taux d'amidons dans les sons des blés hard et soft (Greffeuille et al. 2006a). Ainsi à l'instar des soft, les blés farineux perdent une proportion plus importante d'amidon dans les sons par rapport aux vitreux (qui se comportent comme les blés hard).

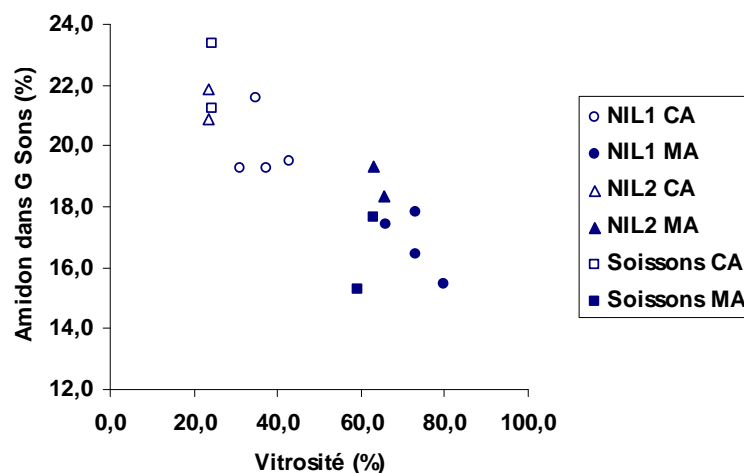


Figure 77: Relation entre vitrosité des grains et taux d'amidon dans les gros sons. CA : Cappelle ; MA : Maule

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'objectif de ce travail était d'étudier les bases biochimiques et physicochimiques de la variabilité de la valeur meunière du blé tendre à l'aide de lignées quasi-isogéniques pour la dureté. Cette étude a été basée sur deux lignées quasi-isogéniques portant les combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a et PinaD1a/Pinb-D1b, et 3 lignées portant les combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1b et PinaD1a/Pinb-D1d. Elle a permis d'établir les liens entre les facteurs génétiques et conditions environnementales, les compositions biochimiques et physicochimiques, les caractéristiques physiques et biochimiques des grains et le comportement en mouture. Cette étude a été particulièrement orientée sur l'étude de l'aptitude à la réduction de l'albumen qui est l'une des composantes de la valeur meunière.

Au cours de ce travail les effets significatifs des facteurs génétiques et des conditions environnementales sur les caractéristiques physiques et biochimiques des grains ont été confirmés. En particulier l'étude a confirmé que la texture soft des grains est associée aux formes sauvages des allèles de Pinb et Pina (Pina-D1a/Pinb-D1a), tandis que les formes mutées de l'une ou l'autre de ces allèles, y compris les combinaisons Pina-D1a/Pinb-D1b et Pina-D1a/Pinb-D1d utilisées ici, sont associées à la texture hard. Elle a également montré que la vitrosité était très fortement corrélée à la dureté SKCS.

Notre travail a aussi montré que les facteurs génétiques et les conditions environnementales contrôlent l'aptitude à la réduction de l'albumen au travers de leurs effets sur les caractéristiques des grains notamment sur la dureté et la vitrosité. Chez les échantillons de texture soft la dureté NIRS était le facteur majeur qui était corrélé positivement à la production des fines semoules ( $r=0,814$ ) et à l'aptitude à la réduction de ces fines semoules ( $r=0,648$  ;  $P<0,001$ ). La vitrosité et la dureté SKCS ont été également corrélées positivement à l'aptitude à la réduction des fines semoules ( $r=0,528$  et  $0,539$  respectivement). Pour les soft, l'augmentation de la dureté et/ou de la vitrosité pour une même type d'échantillon constitue donc un avantage à la fois pour la production de semoules, et sa réduction en farine. Chez les échantillons de texture hard à l'inverse la vitrosité et la dureté SKCS ont été corrélées positivement à la production des grosses semoules ( $r$  compris entre  $0,792$  et  $0,711$ ) et négativement à l'aptitude à la réduction en farine ( $r$  compris entre  $-0,772$  et  $-0,831$ ).

L'étude a également montré des liens entre la texture des grains (dureté et vitrosité) et la composition biochimique de l'albumen. D'une part la dureté NIRS qui est corrélée à l'aptitude à la réduction de l'albumen chez les soft est apparue liée aux pourcentages volumiques des granules de d'amidon de type C, et à la fraction insoluble de protéines. D'autre part, la vitrosité qui était négativement corrélée à l'aptitude à la réduction de l'albumen chez les hard, a été reliée aux variations de la teneur en protéines insolubles dans la matrice protéique.

Les albumens de fortes concentrations en protéines insolubles étaient associés à des fortes valeurs de vitrosité, et inversement.

L'étude a également montré que l'aptitude à la réduction des semoules contribue à expliquer jusqu'à 50% du rendement en farine chez les hard, et jusqu'à 63% du rendement chez les soft.

Compte tenu des résultats de cette étude nous pouvons faire les propositions suivantes :

Pour l'amélioration des connaissances scientifiques des bases biochimiques et physicochimiques de l'aptitude à la réduction de l'albumen, nous proposons :

- Pour les blés de type hard : De poursuivre et terminer l'étude des tailles des agrégats de protéines dans la fraction insoluble de protéines en lien avec l'aptitude à la réduction des semoules afin de clarifier leur éventuel lien avec cette aptitude.

D'étudier le modèle de simulation du mode de rupture de l'albumen en tenant compte de la variabilité des tailles des granules d'amidon.

- Pour les blés de type soft : De vérifier l'éventuelle relation entre les tailles des granules d'amidon et la dureté NIRS, en lien avec l'aptitude à la réduction des semoules.

- De généraliser tous les résultats des études à partir des grains entiers afin de pouvoir envisager la mise au point d'outils de prédiction de l'aptitude à la réduction des semoules à partir des grains.

Notre travail étant axé sur l'étude de l'aptitude à la réduction de l'albumen, il serait important de le compléter par des études approfondies de la séparabilité entre l'amande et les enveloppes, et de la friabilité des enveloppes pour comprendre les bases de la variabilité de la valeur meunière.

Comme outils à usage des sélectionneurs de blé, nous proposons :

- Pour les blés de type hard l'usage de la dureté SKCS comme outil de prédiction de l'ARA. Ainsi, les fortes valeurs de dureté SKCS correspondraient à des fortes valeurs de

vitrosité et à de faibles aptitudes à la réduction des semoules ; à l'inverse les faibles valeurs de dureté SKCS correspondraient à de faibles aptitudes à la réduction des semoules.

- Pour les blés de type soft, l'usage de la dureté NIRS. Ainsi les fortes valeurs de dureté NIRS correspondraient à de fortes valeurs d'aptitude à la réduction des semoules, et inversement.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abad, A., Lloveras, J., and Michelena, A. (2004). "Nitrogen fertilization and foliar urea effects on durum wheat yield and quality and on residual soil nitrate in irrigated Mediterranean conditions." *Field Crops Research*, 87, 257 - 269.
- Abecassis, J. (1993). "Nouvelles possibilités d'apprécier la valeur meunière et la valeur semoulière des blés." *Industries des céréales*, 81, 25-37.
- Antoine, C., Lullien-Pellerin, V., Abecassis, J., and Rouau, X. (2002). "Intérêt nutritionnel de la couche à aleurone du grain de blé." *Sciences des Aliments*, 22(5), 545-556.
- Aucamp, U., Labuschagne, M. T., and van Deventer, C. S. (2006). "Stability analysis of kernel and milling characteristics in winter and facultative wheat." *South African Journal of Plant and Soil*, 23(3), 152-156.
- Bancel, E., Rogniaux, H., Debiton, C., Chambon, C., and Branlard, G. (2010). "Extraction and Proteome Analysis of Starch Granule-Associated Proteins in Mature Wheat Kernel (*Triticum aestivum* L.)." *Journal of Proteome Research*, 9(6), 3299-3310.
- Bechtel, D. B., Zayas, I., Dempster, R., and Wilson, J. D. (1993). "Size-Distribution of Starch Granules Isolated from Hard Red Winter and Soft Red Winter Wheats." *Cereal Chemistry*, 70(2), 238-240.
- Bechtel, D. B., Zayas, I., Kaleikau, L., and Pomeranz, Y. (1990). "Size-Distribution of Wheat-Starch Granules During Endosperm Development." *Cereal Chemistry*, 67(1), 59-63.
- Bettge, A. D., and Morris, C. F. (2000). "Relationships among grain hardness, pentosan fractions, and end-use quality of wheat." *Cereal Chemistry*, 77(2), 241-247.
- Bhullar, S. S., and Jenner, C. F. (1985). "Differential Responses to High-Temperatures of Starch and Nitrogen Accumulation in the Grain of 4 Cultivars of Wheat." *Australian Journal of Plant Physiology*, 12(4), 363-375.
- Biswas, S. C., and Marion, D. (2006). "Interaction between puroindolines and the major polar lipids of wheat seed endosperm at the air-water interface." *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 53(2), 167-174.
- Blochet, J. E., Chevalier, C., Forest, E., Pebaypeyroula, E., Gautier, M. F., Joudrier, P., Pezolet, M., and Marion, D. (1993). "Complete Amino-Acid-Sequence of Puroindoline, a New Basic and Cystine-Rich Protein with a Unique Tryptophan-Rich Domain, Isolated from Wheat Endosperm by Triton X-114 Phase Partitioning." *Febs Letters*, 329(3), 336-340.
- Blumenthal, C. S., Barlow, E. W. R., and Wrigley, C. W. (1993). "Growth Environment and Wheat Quality - the Effect of Heat-Stress on Dough Properties and Gluten Proteins." *Journal of Cereal Science*, 18(1), 3-21.
- Bradbury, D., McMasters, M. M., and Cull, I. M. (1956). "Structure of the wheat kernel. IV. Microscopic structure of the germ of hard red winter wheat." *Cereal Chemistry*, 33(6), 373-391.
- Bresegghello, F., Finney, P. L., Gaines, C., Andrews, L., Tanaka, J., Penner, G., and Sorrells, M. E. (2005). "Genetic loci related to kernel quality differences between a soft and a hard wheat cultivar." *Crop Science*, 45(5), 1685-1695.
- Campbell, C. A., and Davidson, H. R. (1979). "Effect of Temperature, Nitrogen-Fertilization and Moisture Stress on Growth, Assimilate Distribution and Moisture Use by Manitou Spring Wheat." *Canadian Journal of Plant Science*, 59(3), 603-626.
- Campbell, K. G., Bergman, C. J., Gualberto, D. G., Anderson, J. A., Giroux, M. J., Hareland, G., Fulcher, R. G., Sorrells, M. E., and Finney, P. L. (1999). "Quantitative trait loci associated with kernel traits in a soft x hard wheat cross." *Crop Science*, 39(4), 1184-1195.

- Campbell, K. G., Finney, P. L., Bergman, C. J., Gualberto, D. G., Anderson, J. A., Giroux, M. J., Siritunga, D., Zhu, J. Q., Gendre, F., Roue, C., Verel, A., and Sorrells, M. E. (2001). "Quantitative trait loci associated with milling and baking quality in a soft x hard wheat cross." *Crop Science*, 41(4), 1275-1285.
- Cane, K., Spackman, M., and Eagles, H. A. (2004). "Puroindoline genes and their effects on grain quality traits in southern Australian wheat cultivars." *Australian Journal of Agricultural Research*, 55(1), 89-95.
- Capparelli, R., Amoroso, M. G., Palumbo, D., Iannaccone, M., Faleri, C., and Cresti, M. (2005). "Two plant puroindolines colocalize in wheat seed and in vitro synergistically fight against pathogens." *Plant Molecular Biology*, 58(6), 857-867.
- Castro, M., Peterson, C. J., Rizza, M. D., Dellavalle, P. D., Vazquez, D., Ibanez, V., and Ross, A. (2007). "Influence of heat stress on wheat grain characteristics and protein molecular weight distribution." *Wheat Production in Stressed Environments*, 12, 365-371.
- Chang, c., Zhang, H., Xu, j., Li, W., liu, G., You, M., and Li, b. (2006). "Identification of allelic variations of puroindolines genes controlling grain hardness in wheat using a modified denaturing PAGE." *Euphytica*, 152, 225 - 234.
- Chantret, N., Salse, J., Sabot, F., Rahman, S., Bellec, A., Laubin, B., Dubois, I., Dossat, C., Sourdille, P., Joudrier, P., Gautier, M. F., Cattolico, L., Beckert, M., Aubourg, S., Weissenbach, J., Caboche, M., Bernard, M., Leroy, P., and Chalhou, B. (2005). "Molecular basis of evolutionary events that shaped the hardness locus in diploid and polyploid wheat species (*Triticum* and *aegilops*)." *Plant Cell*, 17(4), 1033-1045.
- Chen, F., He, Z., Chen, D., Zhang, C., Zhang, Y., and Xia, X. (2007). "Influence of puroindoline alleles on milling performance and qualities of Chinese noodles, steamed bread and pan bread in spring wheats." *Journal of Cereal Science*, 49(1), 59-66.
- Chen, F., He, Z. H., Xia, X. C., Lillemo, M., and Morris, C. (2005). "A new puroindoline b mutation present in Chinese winter wheat cultivar Jingdong 11." *Journal of Cereal Science*, 42(2), 267-269.
- Chen, F., He, Z. H., Xia, X. C., Xia, L. Q., Zhang, X. Y., Lillemo, M., and Morris, C. F. (2006). "Molecular and biochemical characterization of puroindoline a and b alleles in Chinese landraces and historical cultivars." *Theoretical and Applied Genetics*, 112(3), 400-409.
- Ciaffi, M., Tozzi, L., Borghi, B., Corbellini, M., and Lafiandra, D. (1996). "Effect of heat shock during grain filling on the gluten protein composition of bread wheat." *Journal of Cereal Science*, 24(2), 91-100.
- Clarke, B., and Rahman, S. (2005). "A microarray analysis of wheat grain hardness." *Theoretical and Applied Genetics*, 110, 1259 - 1267.
- Cleemput, G., Roels, S. P., Vanoort, M., Grobet, P. J., and Delcour, J. A. (1993). "Heterogeneity in the Structure of Water-Soluble Arabinoxylans in European Wheat Flours of Variable Bread-Making Quality." *Cereal Chemistry*, 70(3), 324-329.
- Corona, V., Gazza, L., Boggini, G., and Pogna, N. E. (2000). "Variation in Friabilin Composition as Determined by A-PAGE Fractionation and PCR Amplification, and its Relationship to Grain Hardness in Bread Wheat." *Journal of cereal Science*, 34, 243 - 250.
- Craven, M., Barnard, A., and Labuschagne, M. T. (2007). "The impact of cold temperatures during grain maturation on selected quality parameters of wheat." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(9), 1783-1793.
- Dai, Z., Yin, Y., Zhang, M., Li, W., Yan, S., Cai, R., and Wang, Z. (2008). "Starch granule size distribution in wheat grains under irrigated and rainfed conditions." *Acta Agronomica Sinica*, 34(5), 795-802.

- Dai, Z. M., Yin, Y. P., and Wang, Z. L. (2009). "Starch Granule Size Distribution from Seven Wheat Cultivars Under Different Water Regimes." *Cereal Chemistry*, 86(1), 82-87.
- Daniel, C., and Triboi, E. (2002). "Changes in wheat protein aggregation during grain development: effects of temperatures and water stress." *European Journal of Agronomy*, 16(1), 1-12.
- Delwiche, S. R. (1993). "Measurement of Single-Kernel Wheat Hardness Using near-Infrared Transmittance." *Transactions of the Asae*, 36(5), 1431-1437.
- Dengate, H., and Meredith, P. (1984). "Variation in Size Distribution of Starch Granules from Wheat-Grain." *Journal of Cereal Science*, 2(2), 83-90.
- Dervilly-Pinel, G., Rimsten, L., Saulnier, L., Andersson, R., and Aman, P. (2001). "Water-extractable arabinoxylan from pearled flours of wheat, barley, rye and triticale. Evidence for the presence of ferulic acid dimers and their involvement in gel formation." *Journal of Cereal Science*, 34(2), 207-214.
- Dexter, J. E., Marchylo, B. A., Macgregor, A. W., and Tkachuk, R. (1989). "The Structure and Protein-Composition of Vitreous, Piebald and Starchy Durum-Wheat Kernels." *Journal of cereal Science*, 10(1), 19-32.
- Dobraszczyk, B. J. (1994). "Fracture mechanics of vitreous and mealy wheat endosperm." *Journal of Cereal Sciences*, 19, 273-282.
- Dongyun, M., Yan, Z., Xianchun, X., Morris, C. F., and Zhonghu, H. (2009). "Milling and Chinese raw white noodle qualities of common wheat near-isogenic lines differing in puroindoline b alleles." *Journal of Cereal Science*, 50(1), 50 (1) 126-130.
- Dubreil, L., Gaborit, T., Bouchet, B., Gallant, D. J., Broekaert, W. F., Quillien, L., and Marion, D. (1998). "Spatial and temporal distribution of the major isoforms of puroindolines (puroindoline-a and puroindoline-b) and non specific lipid transfer protein (ns-LTPle(1)) of *Triticum aestivum* seeds. Relationships with their in vitro antifungal properties." *Plant Science*, 138(2), 121-135.
- Edwards, M. A., G., O. B., and Henry, R. J. (2008). "effect of endosperm starch granule size distribution on milling yield in hard wheat." *Journal of Cereal Science*, 48, 180 - 192.
- Edwards, M. A., Osborne, B. G., and Henry, R. J. (2010). "Puroindoline genotype, starch granule size distribution and milling quality of wheat." *Journal of Cereal Science*, 52(2), 52 (2) 314-320.
- Entz, M. H., and Fowler, D. B. (1988). "Critical Stress Periods Affecting Productivity of No-Till Winter-Wheat in Western Canada." *Agronomy Journal*, 80(6), 987-992.
- Evers, A. D., and Lindley, J. (1977). "Particle-Size Distribution in Wheat Endosperm Starch." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(1), 98-102.
- Evers, A. D., and Reed, M. (1988). "Some novel observations by scanning electron microscopy on the seed coat and nucellus of the mature wheat grain." *Cereal Chemistry*, 65(2), 81-85.
- Figueroa, J. D. C., Maucher, T., Reule, W., and Pena, R. J. (2009). "Influence of High Molecular Weight Glutenins on Viscoelastic Properties of Intact Wheat Kernel and Relation to Functional Properties of Wheat Dough." *Cereal Chemistry*, 86(2), 139-144.
- Fincher, G. B., and Stone, B. A. (1986). "Cell walls and their components in cereal grain technology." *Advances in Cereal Science and Technology*, 8, 8, 207-295.
- Finlay, G. J., Bullock, P. R., Sapirstein, H. D., Naeem, H. A., Hussain, A., Angadi, S. V., and DePauw, R. M. (2007). "Genotypic and environmental variation in grain, flour, dough and bread-making characteristics of western Canadian spring wheat." *Canadian Journal of Plant Science*, 87(4), 679-690.



- Finnie, S. M., Jeannotte, R., Morris, C. F., Giroux, M. J., and Faubion, J. M. (2010). "Variation in polar lipids located on the surface of wheat starch." *Journal of Cereal Science*, 51(1), 73-80.
- Gaines, C. S., Finney, P. F., Fleege, L. M., and Andrews, L. C. (1996). "Predicting a hardness measurement using the single-kernel characterization system." *Cereal Chemistry*, 73(2), 278-283.
- Gaines, C. S., Raeker, M. O., Tilley, M., Finney, P. L., Wilson, J. D., Bechtel, D. B., Martin, R. J., Seib, P. A., Lookhart, G. L., and Donelson, T. (2000). "Associations of starch gel hardness, granule size, waxy allelic expression, thermal pasting, milling quality, and kernel texture of 12 soft wheat cultivars." *Cereal Chemistry*, 77(2), 163-168.
- Galande, A. A., Tiwari, R., Ammiraju, J. S. S., Santra, D. K., Lagu, M. D., Rao, V. S., Gupta, V. S., Misra, B. K., Nagarajan, S., and Ranjekar, P. K. (2001). "Genetic analysis of kernel hardness in bread wheat using PCR-based markers." *Theoretical and Applied Genetics*, 103(4), 601-606.
- Gamlath, J., Aldred, G. P., and Panozzo, J. F. (2008). "Barley (1 -> 3; 1 -> 4)-beta-glucan and arabinoxylan content are related to kernel hardness and water uptake." *Journal of Cereal Science*, 47(2), 365-371.
- Gautier, M. F., Aleman, M. E., Guirao, A., Marion, D., and Joudrier, P. (1994). "Triticum-Aestivum Puroindolines, 2 Basic Cystine-Rich Seed Proteins - Cdna Sequence-Analysis and Developmental Gene-Expression." *Plant Molecular Biology*, 25(1), 43-57.
- Gazza, L., Nocente, F., Ng, P. K. W., and Pogna, N. E. (2005). "Genetic and biochemical analysis of common wheat cultivars lacking puroindoline a." *Theoretical and Applied Genetics*, 110(3), 470-478.
- Gazza, L., Tadddei, F., Corbellini, M., Cacciatori, P., and Pogna, N. E. (2008). "Genetic and environmental factors affecting grain texture in common wheat." *Journal of Cereal Science*, 47(1), 52-58.
- Geera, B. P., Nelson, J. E., Souza, E., and Huber, K. C. (2006). "Composition and properties of A- and B-type starch granules of wild-type, partial waxy, and waxy soft wheat." *Cereal Chemistry*, 83(5), 551-557.
- Gianibelli, M. C., Arango, C., and Sarandon, S. J. (1991). "Protein composition of vitreous and yellow berry bread wheat: Influence of nitrogen fertilization." *Pages 765-771 in: Gluten Proteins 1990. W. Bushuk and R. Tkachuk, eds. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN.*
- Girhammar, U., and Nair, B. M. (1992). "Isolation, Separation and Characterization of Water-Soluble Nonstarch Polysaccharides from Wheat and Rye." *Food Hydrocolloids*, 6(3), 285-299.
- Giroux, M. J., and Morris, C. F. (1997). "A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch-surface friabilin." *Theoretical and Applied Genetics*, 95, 857-864.
- Giroux, M. J., and Morris, C. F. (1998). "Wheat grain hardness results from highly conserved mutation in the friabilin components puroindoline a and b." *Proc. Natl. Sci. USA*, 95, 6262 - 6266.
- Glenn, G. M., Pitts, M. J., Liao, K., and Irving, D. W. (1992). "Block-Surface Staining for Differentiation of Starch and Cell-Walls in Wheat Endosperm." *Biotechnic & Histochemistry*, 67(2), 88-97.
- Glenn, G. M., and Saunders, R. M. (1990). "Physical and Structural-Properties of Wheat Endosperm Associated with Grain Texture." *Cereal Chemistry*, 67(2), 176-182.

- Glenn, G. M., Younce, F. L., and Pitts, M. J. (1991). "Fundamental physical properties characterizing the hardness of wheat endosperm." *Journal of Cereal Sciences*, 13, 179-194.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., and Delcour, J. A. (2005). "Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality." *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 12-30.
- Gollan, P., Smith, K., and Bhave, M. (2007). "Gsp-1 genes comprise a multigene family in wheat that exhibits a unique combination of sequence diversity yet conservation." *Journal of Cereal Science*, 45(2), 184-198.
- Greenaway, W. t. (1969). "A Wheat Hardness Index." *Cereal Science Today*, 14(2), 4-&.
- Greffeuille, V., Abecassis, J., Bar L'Helgouach'h, C., and Lullien-Pellerin, V. (2005). "Differences in the Aleurone Layer Fate Between Hard and Soft Common Wheats at Grain Milling." *Cereal Chemistry*, 82(2), 138-143.
- Greffeuille, V., Abecassis, J., Barouh, N., Villeneuve, P., Mabile, F., Bar L'Helgouach'h, C., and Lullien-Pellerin, V. (2007). "Analysis of the milling reduction of bread wheat farina: Physical and biochemical caractérisation." *Journal of Cereal Science*, 45, 97-105.
- Greffeuille, V., Abecassis, J., Lapiere, C., and Lullien-Pellerin, V. (2006a). "Bran Size Distribution at Milling and Mechanical and Biochemical Characterization of Common Wheat Grain Outer Layers: A Relationship Assessment." *Cereal Chemistry*, 83(6), 641-646.
- Greffeuille, V., Abecassis, J., Rousset, M., Oury, F.-X., Faye, A., Bar L'Helgouach'h, C., and Lullien-Pellerin, V. (2006b). "Grain characterization and milling behaviour of near-isogenic lines differing by hardness." *Theoretical and Applied Genetics*, 114(1), 1-12.
- Groos, C., Robert, N., Bervas, E., and Charmet, G. (2003). "Genetic analysis of grain protein-content, grain yield and thousand-kernel weight in bread wheat." *Theoretical and Applied Genetics*, 106(6), 1032-1040.
- Gruppen, H., Kormelink, F. J. M., and Voragen, A. G. J. (1993). "Water-Unextractable Cell-Wall Material from Wheat-Flour .3. a Structural Model for Arabinoxylans." *Journal of Cereal Science*, 18(2), 111-128.
- Haddad, Y., Benet, J. C., and Abecassis, J. (1998). "A rapid general method for appraising the rheological properties of the starchy endosperm of cereal grains." *Cereal Chemistry*, 75(5), 673-676.
- Haddad, Y., Benet, J. C., Delenne, J. Y., Mermet, A., and Abecassis, J. (2001). "Rheological behaviour of wheat endosperm - Proposal for classification based on the rheological characteristics of endosperm test samples." *Journal of Cereal Science*, 34, 105-113.
- Han, X. Z., Benmoussa, M., Gray, J. A., BeMiller, J. N., and Hamaker, B. R. (2005). "Detection of proteins in starch granule channels." *Cereal Chemistry*, 82(4), 351-355.
- Hnilica, P., and Grundas, S. (1992). "Density distribution, vitreosity and rheological properties of wheat endosperm." *Trends in agricultural engineering, Prague, 15-18 September 1992. Proceedings I.*, 189-194.
- Hogg, A. C., Beecher, B., Martin, J. M., Meyer, F., Talbert, L., Lanning, S., and Giroux, M. J. (2005). "Hard wheat milling and bread baking traits affected by the seed-specific overexpression of puroindolines." *Crop Science*, 45(3), 871-878.
- Holt, L. M., Astin, R., and Payne, P. I. (1981). "Structural and Genetic-Studies on the High-Molecular-Weight Subunits of Wheat Glutenin .2. Relative Isoelectric Points Determined by Two-Dimensional Fractionation in Polyacrylamide Gels." *Theoretical and Applied Genetics*, 60(4), 237-243.
- Hoseney, R. C. (1986). "Structure of cereal", in R. C. Hoseney, (ed.), *Principles of Cereal Sciences and Technology*. St Paul, MN, pp. 1-33.

- Hruskova, M., and Svec, I. (2009). "Wheat Hardness in Relation to Other Quality Factors." *Czech Journal of Food Sciences*, 27(4), 240-248.
- Huang, X. Q., and Roder, M. S. (2005). "Development of SNP assays for genotyping the puroindoline b gene for grain hardness in wheat using pyrosequencing." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2070-2075.
- Igrejas, G., Gaborit, T., Oury, F. X., Chiron, H., Marion, D., and Branlard, G. (2001). "Genetic and environmental effects on puroindoline-a and puroindoline-b content and their relationship to technological properties in French bread wheats." *Journal of cereal Science*, 34(1), 37-47.
- Ikeda, T. M., Ohnishi, N., Nagamine, T., Oda, S., Hisatomi, T., and Yano, H. (2005). "Identification of new puroindoline genotypes and their relationship to flour texture among wheat cultivars."
- Jarvis, C. K., Sapirstein, H. D., Bullock, P. R., Naeem, H. A., Angadi, S. V., and Hussain, A. (2008). "Models of growing season weather impacts on breadmaking quality of spring wheat from producer fields in western Canada." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13), 2357-2370.
- Jelaca, S. L., and Hlynka, I. (1971). "Water-Binding Capacity of Wheat Flour Crude Pentosans and Their Relation to Mixing Characteristics of Dough." *Cereal Chemistry*, 48(3), 211-&.
- Jenner, C. F. (1994). "Starch Synthesis in the Kernel of Wheat under High-Temperature Conditions." *Australian Journal of Plant Physiology*, 21(6), 791-806.
- Jiang, D., Cao, W. X., Dai, T. B., and Jing, Q. (2003). "Activities of key enzymes for starch synthesis in relation to growth of superior and inferior grains on winter wheat (*Triticum aestivum* L.) spike." *Plant Growth Regulation*, 41(3), 247-257.
- Jiang, Q. T., Wei, Y. M., Wang, F., Wang, J. R., Yan, Z. H., and Zheng, Y. L. (2009). "Characterization and comparative analysis of HMW glutenin 1Ay alleles with differential expressions." *Bmc Plant Biology*, 9.
- Johansson, E. (2000). "Environmental effects on wheat proteins." *Wheat Gluten*(261), 480-483.
- Johansson, E., Kuktaite, R., Andersson, A., and Prieto-Linde, M. L. (2005). "Protein polymer build-up during wheat grain development: influences of temperature and nitrogen timing." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(3), 473-479.
- Joppa, L. R., Du, C. H., Hart, G. E., and Hareland, G. A. (1997). "Mapping gene(s) for grain protein in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.) using a population of recombinant inbred chromosome lines." *Crop Science*, 37(5), 1586-1589.
- Karlsson, R., Olered, R., and Eliasson, A. C. (1983). "Changes in Starch Granule Size Distribution and Starch Gelatinization Properties During Development and Maturation of Wheat, Barley and Rye." *Starke*, 35(10), 335-340.
- Ke, B., and Xiao-Ping, Y. (2005). "The relationship between starch granule proteins and wheat hardness." *Journal of Henan University of Technology Natural Science Edition*, 26(1), 26 (1) 1-6.
- Kim, H. S., and Huber, K. C. (2008). "Channels within soft wheat starch A- and B-type granules." *Journal of Cereal Science*, 48(1), 159-172.
- Kindred, D. R., Verhoevena, T. M. O., Weightman, R. M., Swanston, J. S., Agu, R. C., Brosnan, J. M., and Sylvester-Bradley, R. (2008). "Effects of variety and fertiliser nitrogen on alcohol yield, grain yield, starch and protein content, and protein composition of winter wheat."
- Kleijer, G., Levy, L., Schwaerzel, R., Fossati, D., and Brabant, C. (2007). "Relationship between test weight and several quality parameters in wheat." *Agrarforschung*, 14(11-12), 548-+.

- Konopka, I., Kozirook, W., and Tanska, M. (2005). "Wheat endosperm hardness. Part I. Relationships to colour of kernel cross-section." *Eur Food Res Technol* (2005) 220(11 - 19).
- Law, C. N., Young, C. F., Brown, J. W. S., Snape, J. W., and Worland, A. J. (1978). "The study of grain protein control in wheat using whole chromosome substitution lines." *Seed protein improvement by nuclear technique. Proceedings of the two Research Co-ordination Meetings, Baden, 28 March - 1 April 1977 and Vienna, 26-30 September 1977. Aneuploids in wheat protein improvement.*, 483-502.
- Lee, S. H., and BeMiller, J. N. (2008). "Lysophosphatidylcholine identified as channel-associated phospholipid of maize starch granules." *Cereal Chemistry*, 85(6), 776-779.
- Lesage, V. S., Bouchet, B., Rhazi, L., Elmorjani, K., Branlard, G., and 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." *Journal of Cereal Science*, 53(2), 231-238.
- Li, W., Yan, S., Yin, Y., Li, Y., Liang, T., Gu, F., Dai, Z., and Wang, Z. (2008). "Comparison of starch granule size distribution between hard and soft wheat cultivars in Eastern China." *Agricultural Sciences in China*, 7(8), 907-914.
- Li, W., Yan, S., Yin, Y., and Wang, Z. (2010). "Starch granule size distribution in wheat grain in relation to shading after anthesis." *Journal of Agricultural Science, UK*, 148(2), 148 (2) 183-189.
- Lillemo, M., Chen, F., Xia, X. C., William, M., Pena, R. J., Trethowan, R., and He, Z. H. (2006). "Puroindoline grain hardness alleles in CIMMYT bread wheat germplasm." *Journal of Cereal Science*, 44(1), 86-92.
- Lillemo, M., and Morris, C. F. (2000). "A leucine to proline mutation in puroindoline b is frequently present in hard wheats from Northern Europe." *Theoretical and Applied Genetics*, 100(7), 1100-1107.
- Lineback, D. R., and Rasper, V. F. (1988). "Wheat carbohydrates." *Wheat: chemistry and technology. Volume I.*(Ed. 3), 277-372.
- Martin, J. M., Frohberg, R. C., Morris, C. F., Talbert, L. E., and Giroux, M. J. (2001). "Milling and bread baking traits associated with puroindoline sequence type in hard red spring wheat." *Crop Science*, 41(1), 228-234.
- Mattern, P. J., Morris, R., Schmidt, J. W., and Johnson, V. A. (1973). "Locations of genes for kernel properties in the wheat variety 'Cheyenne' using chromosome substitution lines." *Proceedings of the Fourth International Wheat Genetics Symposium. Cytogenetics.*, 703-707.
- Matzke, K., and Riederer, M. (1990). "The composition of the cutin of the caryopses and leaves of *Triticum aestivum* L." *Planta*, 182, 461-466.
- Medcalf, D. G., and Gilles, K. A. (1965). "Wheat starches I. Comparison of physicochemical properties." *Cereal Chemistry*, 42, 558-568.
- Morel, M. H., and Bar-L'Helgouac'h, C. (2000). "Reliable estimates of gliadin, total and unextractable glutenin polymers and total protein content, from single SE-HPLC analysis of total wheat flour protein extract." *Wheat Gluten*(261), 140-143.
- Morris, C. F. (2002). "Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness." *Plant Molecular Biology*, 48(5), 633-647.
- Morris, C. F., DeMacon, V. L., and Giroux, M. J. (1999). "Wheat grain hardness among chromosome 5D homozygous recombinant substitution lines using different methods of measurement." *Cereal Chemistry*, 76(2), 249-254.
- Morris, C. F., and Massa, A. N. (2003). "Puroindoline genotype of the US National Institute of Standards & Technology Reference Material 8441, wheat hardness." *Cereal Chemistry*, 80(6), 674-678.

- Morrison, W. R., Law, C. N., Wylie, L. J., Coventry, A. M., and Seekings, J. (1989). "The Effect of Group-5 Chromosomes on the Free Polar Lipids and Breadmaking Quality of Wheat." *Journal of Cereal Science*, 9(1), 41-51.
- Morrison, W. R., and Scott, D. C. (1986). "Measurement of the Dimensions of Wheat-Starch Granule Populations Using a Coulter-Counter with 100-Channel Analyzer." *Journal of Cereal Science*, 4(1), 13-21.
- Muhamad, I. I., and Campbell, G. M. (2004). "Effects of kernel hardness and moisture content on wheat breakage in the single kernel characterisation system." *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(1), 119-125.
- Murai, J., Taira, T., and Ohta, D. (1999). "Isolation and characterization of the three Waxy genes encoding the granule-bound starch synthase in hexaploid wheat." *Gene*, 234(1), 71-79.
- Neethirajan, S., Jayas, D. S., and Karunakaran, C. (2007). "Dual energy X-ray image analysis for classifying vitreousness in durum wheat." *Postharvest Biology and Technology*, 45(3), 381-384.
- Nel, M. M., Agenbag, G. A., and Purchase, J. L. (1998). "Sources of variation for yield, protein content and hectolitre mass of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars of the Western and Southern Cape." *South African Journal of Plant and Soil*, 15(2), 72-79.
- Nelson, J. C., Sorrells, M. E., Vandeynze, A. E., Lu, Y. H., Atkinson, M., Bernard, M., Leroy, P., Faris, J. D., and Anderson, J. A. (1995). "Molecular Mapping of Wheat - Major Genes and Rearrangements in Homoeologous Group-4, Group-5, and Group-7." *Genetics*, 141(2), 721-731.
- Nevo, E., and Payne, P. I. (1987). "Wheat Storage Proteins - Diversity of Hmw Glutenin Subunits in Wild Emmer from Israel .1. Geographical Patterns and Ecological Predictability." *Theoretical and Applied Genetics*, 74(6), 827-836.
- Obuchowski, W., Salmanowicz, B., Banaszak, Z., Adamski, T., Surma, M., Kaczmarek, Z., Majcher, M., Lugowska, B., Kuczynska, A., and Krystkowiak, K. "Grain hardness of wheat bred in Poland and its relationship to starch damage during milling." *International Agrophysics*, 24(1), 69-74.
- Ohm, J. B., Chung, O. K., and Deyoe, C. W. (1998). "Single-kernel characteristics of hard winter wheats in relation to milling and baking quality." *Cereal Chemistry*, 75(1), 156-161.
- Orucevic, S., Ugarcl-Hardl, Z., Beglc-Akaglc, A., and Spaho, N. (2008). "Wheat hardness index in relation to the other wheat quality parameters." *Proceedings of the 4th International Congress on Flour - Bread '07*, 183-189.
- Otteson, B. N., Mergoum, M., and Ransom, J. K. (2008). "Seeding rate and nitrogen management on milling and baking quality of hard red spring wheat genotypes." *Crop Science*, 48(2), 749-755.
- Pan, Z., Song, W., Meng, F., Xu, L., Liu, B., and Zhu, J. (2004). "Characterization of genes encoding wheat grain hardness from Chinese cultivar GaoCheng 8901." *Cereal Chemistry*, 81(2), 287-289.
- Panozzo, J. F., and Eagles, H. A. (1998). "Cultivar and environmental effects on quality characters in wheat. I. Starch." *Australian Journal of Agricultural Research*, 49(5), 757-766.
- Panozzo, J. F., and Eagles, H. A. (2000). "Cultivar and environmental effects on quality characters in wheat. II. Protein." *Australian Journal of Agricultural Research*, 51(5), 629-636.

- Parish, J. A., and Halse, N. J. (1968). "Effect of light, temperature and the rate of desiccation on translucency in wheat grain." *Australian Journal of Agricultural Research*, 19, 365 - 372.
- Park, C., Kang, C., Park, J., Jung, Y., Cheong, Y., and Woo, S. (2009). "Association of puroindolines genotypes and grain properties, milling performances and physical properties of flour in Korean wheats." *Korean Journal of Crop Science / Hanguk Jakmul Hakhoe Chi*, 54(3), 249-259.
- Patil, S. K., Tsen, C. C., and Lineback, D. R. (1975). "Water-Soluble Pentosans of Wheat-Flour .1. Viscosity Properties and Molecular-Weights Estimated by Gel-Filtration." *Cereal Chemistry*, 52(1), 44-56.
- Perretant, M. R., Cadalen, T., Charmet, G., Sourdille, P., Nicolas, P., Boeuf, C., Tixier, M. H., Branlard, G., Bernard, S., and Bernard, M. (2000). "QTL analysis of bread-making quality in wheat using a doubled haploid population." *Theoretical and Applied Genetics*, 100(8), 1167-1175.
- Pickering, P. A., and Bhave, M. (2007). "Comprehensive analysis of Australian hard wheat cultivars shows limited puroindoline allele diversity." *Plant Science*, 172(2), 371-379.
- Pomeranz, Y. (1982). "Chemical composition of kernel structures", in Y. Pomeranz, (ed.), *Wheat chemistry and technology*. St Paul, MN, pp. 97-110.
- Pomeranz, Y. (1988). "Chemical composition of kernel structures", in Y. Pomeranz, (ed.), *Wheat : Chemistry and Technology*. St Paul: AACC, pp. 97-158.
- Pomeranz, Y., and Williams, P. C. (1990). "Wheat hardness: its genetic, structural, and biochemical background, measurement, and significance." *Advances in Cereal Science and Technology*, 10, 10, 471-548.
- Preston, K. R., Kilborn, R. H., Morgan, B. C., and Babb, J. C. (1991). "Effects of Frost and Immaturity on the Quality of a Canadian Hard Red Spring Wheat." *Cereal Chemistry*, 68(2), 133-138.
- Psota, V., Vejrazka, K., Hartmann, J., and Musilova, M. (2008). "Effect of the endosperm structure of barley caryopsis (*Hordeum vulgare* L.) on malt quality." *Kvasny Prumysl: 54 (10) 294-299*, 54(10), 294-299.
- Raeker, M. O., Gaines, C. S., Finney, P. L., and Donelson, T. (1998). "Granule size distribution and chemical composition of starches from 12 soft wheat cultivars." *Cereal Chemistry*, 75(5), 721-728.
- Raman, R., Allen, H., Diffey, S., Raman, H., Martin, P., and McKelvie, K. (2009). "Localisation of quantitative trait loci for quality attributes in a doubled haploid population of wheat (*Triticum aestivum* L.)." *Genome*, 52(8), 701-715.
- Rattan, O., Izydorczyk, M. S., and Biliaderis, C. G. (1994). "Structure and Rheological Behaviour of Arabinoxylans from Canadian Bread Wheat Flours." *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 27(6), 550-555.
- Sadowska, J., Jelinski, T., and Fornal, J. (1999). "Comparison of microstructure of vitreous and mealy kernels of hard and soft wheat." *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 8/49(4), 3-15.
- Samson, M.-F., Mabilhe, F., Chéret, R., Abecassis, J., and Morel, M.-F. (2005). "Mechanical and physicochemical Characterization of Vitreous and Mealy Durum Wheat endosperm." *Cereal Chemistry*, 82(1), 81 - 87.
- Shantha, N., Tripathi, S., Singh, G. P., and Chaudhary, H. B. (2007). "Effect of genotype and environment on quality traits and grain yield of wheat." *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 67(2), 149-152.
- Shinde, S. V., Nelson, J. E., and Huber, K. C. (2003). "Soft wheat starch pasting behavior in relation to A- and B-type granule content and composition." *Cereal Chemistry*, 80(1), 91-98.

- Simmonds, D. H., and O'Brien, T. P. (1981). "Morphological and biochemical development of the wheat endosperm." *Advances in Cereal Science and Technology*, 4, 5-70.
- Sissons, M. J., Osborne, B. G., Hare, R. A., Sissons, S. A., and Jackson, R. (2000). "Application of the single-kernel characterization system to durum wheat testing and quality prediction." *Cereal Chemistry*, 77(1), 4-10.
- Smith, A. M., Denyer, K., and Martin, C. (1997). "The synthesis of the starch granule." *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 67-87.
- Sofield, I., Wardlaw, I. F., Evans, L. T., and Zee, S. Y. (1977). "Nitrogen, Phosphorus and Water Contents During Grain Development and Maturation in Wheat." *Australian Journal of Plant Physiology*, 4(5), 799-810.
- Sourdille, P., Perretant, M. R., Charmet, G., Leroy, P., Gautier, M. F., Joudrier, P., Nelson, J. C., Sorrells, M. E., and Bernard, M. (1996). "Linkage between RSLP markers and genes affecting kernel hardness in wheat." *Theoretical and Applied Genetics*, 93(4), 580-586.
- Souza, E. J., Martin, J. M., Guttieri, M. J., O'Brien, K. M., Habernicht, D. K., Lanning, S. P., McLean, R., Carlson, G. R., and Talbert, L. E. (2004). "Influence of genotype, environment, and nitrogen management on spring wheat quality." *Crop Science*, 44(2), 425-432.
- Stenvert, N. L., and Kingswood, K. (1977). "Influence of Physical Structure of Protein Matrix on Wheat Hardness." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(1), 11-19.
- Stevenson, D. G., Jane, J. L., and Inglett, G. E. (2007). "Structure and physicochemical properties of starches from sieve fractions of oat flour compared with whole and pin-milled flour." *Cereal Chemistry*, 84(6), 533-539.
- Symons, S. J., Van Schepdael, L., and Dexter, J. E. (2003). "Measurement of hard vitreous kernels in durum wheat by machine vision." *Cereal Chemistry*, 80(5), 511-517.
- Tanaka, H., Morris, C. F., Haruna, M., and Tsujimoto, H. (2008). "Prevalence of puroindoline alleles in wheat varieties from eastern Asia including the discovery of a new SNP in puroindoline b." *Plant Genetic Resources Characterization and Utilization*, 6(2).
- Terman, G. L. (1979). "Yields and Protein-Content of Wheat-Grain as Affected by Cultivar, N, and Environmental Growth-Factors." *Agronomy Journal*, 71(3), 437-440.
- Topin, V., Delenne, J. Y., Radjai, F., Brendel, L., and Mabilie, F. (2007). "Strength and failure of cemented granular matter." *European Physical Journal E*, 23(4), 413-429.
- Topin, V., Radjai, F., Delenne, J. Y., Sadoudi, A., and Mabilie, F. (2008). "Wheat endosperm as a cohesive granular material." *Journal of Cereal Science*, 47(2), 347-356.
- Triboi, E., Abad, A., Michelena, A., Lloveras, J., Ollier, J. L., and Daniel, C. (2000). "Environmental effects on the quality of two wheat genotypes: 1. quantitative and qualitative variation of storage proteins." *European Journal of Agronomy*, 13(1), 47-64.
- Triboi, E., Martre, P., Girousse, C., Ravel, C., and Triboi-Blondel, A. M. (2006). "Unravelling environmental and genetic relationships between grain yield and nitrogen concentration for wheat." *European Journal of Agronomy*, 25(2), 108-118.
- Turnbull, K.-M., and Rahman, S. (2002). "Endosperm texture in Wheat." *Journal of Cereal Science*, 36, 327 - 337.
- Turnbull, K. M., Gaborit, T., Marion, D., and Rahman, S. (2000). "Variation in puroindoline polypeptides in Australian wheat cultivars in relation to grain hardness." *Australian Journal of Plant Physiology*, 27(2), 153-158.
- Turner, A. S., Bradburne, R. P., Fish, L., and Snape, J. W. (2004). "New quantitative trait loci influencing grain texture and protein content in bread wheat." *Journal of Cereal Science*, 40(1), 51-60.

- Umemoto, T., and Terashima, K. (2002). "Activity of granule-bound starch synthase is an important determinant of amylose content in rice endosperm." *Functional Plant Biology*, 29(9), 1121-1124.
- Venora, G., Grillo, O., and Saccone, R. (2009). "Quality assessment of durum wheat storage centres in Sicily: Evaluation of vitreous, starchy and shrunken kernels using an image analysis system." *Journal of Cereal Science*, 49, 429 - 440.
- Vincent, T., Radjai, F., Delenne, J. Y., and Mabilbe, F. (2009). "Mechanical modeling of wheat hardness and fragmentation." *Powder Technology*, 190(1-2), 215-220.
- Wanjugi, H. W., Martin, J. M., and Giroux, M. J. (2007). "Influence of puroindolines A and B individually and in combination on wheat milling and bread traits." *Cereal Chemistry*, 84(6), 540-547.
- Weightman, R. M., Millar, S., Alava, J., Foulkes, M. J., Fish, L., and Snape, J. W. (2008). "Effects of drought and the presence of the 1BL/1RS translocation on grain vitreosity, hardness and protein content in winter wheat." *Journal of Cereal Science*, 47(3), 457-468.
- Wiley, P. R., Tosi, P., Evrard, A. L., A., Jones, H. D., and Shewry, P. R. (2007). "Promoter analysis and immunolocalisation show that puroindoline genes are exclusively expressed in starchy endosperm cells of wheat grain." *Plant mol Biol*, 64, 125-136.
- Williams, P. C. (1979). "Screening Wheat for Protein and Hardness by near-Infrared Reflectance Spectroscopy." *Cereal chemistry*, 56(3), 169-172.
- Wooding, A. R., Kavale, S., Wilson, A. J., and Stoddard, E. L. (2000). "Effects of nitrogen and sulfur fertilization on commercial-scale wheat quality and mixing requirements." *Cereal Chemistry*, 77(6), 791-797.
- Worzella, W. W., and Culter, G. H. (1939). "A critical study of technics for measuring granulation in Wheat meal." *Journal of agricultural Science*, 58, 329 - 341.
- Xia, L., Genga, H., Chena, X., Hea, Z., Lillemoc, M., and Morris, F. C. (2008). "Silencing of puroindoline a alters the kernel texture in transgenic bread wheat." *Journal of cereal Science*, 47, 331 - 338.
- Yelun, Z., Yunpeng, W., Yonggui, X., Jun, Y., Yong, Z., Yan, Z., Chuanxi, M., Xianchun, X., and Zhonghu, H. (2009). "QTL mapping for milling, gluten quality, and flour pasting properties in a recombinant inbred line population derived from a Chinese soft x hard wheat cross." *Crop & Pasture Science*, 60(6), 60 (6) 587-597.
- Zanetti, S., Winzeler, M., Feuillet, C., Keller, B., and Messmer, M. (2001). "Genetic analysis of bread-making quality in wheat and spelt." *Plant Breeding*, 120(1), 13-19.
- Zayas, I. Y., Bechtel, D. B., Wilson, J. D., and Dempster, R. E. (1994). "Distinguishing Selected Hard and Soft Red Winter Wheats by Image-Analysis of Starch Granules." *Cereal Chemistry*, 71(1), 82-86.
- Zhang, C. H., Jiang, D., Liu, F. L., Cai, J., Dai, T. B., and Cao, W. X. (2010). "Starch granules size distribution in superior and inferior grains of wheat is related to enzyme activities and their gene expressions during grain filling." *Journal of Cereal Science*, 51(2), 226-233.
- Zhang, Y., He, Z. H., Ye, G. Y., Aimin, Z., and Van Ginkel, M. (2004). "Effect of environment and genotype on bread-making quality of spring-sown spring wheat cultivars in China." *Euphytica*, 139(1), 75-83.
- Zhang, Y., Zhang, Y., He, Z. H., and Ye, G. Y. (2005). "Milling quality and protein properties of autumn-sown Chinese wheats evaluated through multi-location trials." *Euphytica*, 143(1-2), 209-222.
- Zhu, J., and Khan, K. (2001). "Effects of genotype and environment on glutenin polymers and breadmaking quality." *Cereal Chemistry*, 78(2), 125-130.



## **ANNEXES**

Annexe 1 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2007

Lignée	Récolte	Allèles de Puroindoline-a et -b	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NILA	2007	a/a	ChartainVillers	N	44,0	78,5	12,2	17,0	23,2
NILA	2007	a/a	ChartainVillers	N+	47,0	80,0	13,3	16,0	26,1
NILA	2007	a/a	Clermont-Ferrand	N	46,1	79,0	11,1	20,0	14,2
NILA	2007	a/a	Clermont-Ferrand	N+	48,4	79,5	11,5	19,0	13,9
NILA	2007	a/a	Estrées-Mons	N	35,6	75,5	13,3	14,0	38,0
NILA	2007	a/a	Estrées-Mons	N+	34,9	74,0	13,6	17,0	57,3
NILA	2007	a/a	Louville	N	47,1	78,5	12,1	17,0	26,0
NILA	2007	a/a	Louville	N+	47,1	78,5	12,1	17,0	26,0
NILA	2007	a/a	Mons	N	42,6	78,5	12,0	18,0	28,1
NILA	2007	a/a	Mons	N+	42,2	78,5	12,7	23,0	28,2
NILA	2007	a/a	Le Moulon	N	46,2	76,5	12,5	20,0	27,1
NILA	2007	a/a	Le moulon	N+	42,3	75,5	13,5	19,0	29,4
NILA	2007	a/a	Rennes	N	41,6	75,0	11,9	11,0	23,8
NILA	2007	a/a	Rennes	N+	36,2	74,0	12,8	7,0	25,8
NILA	2007	a/b	ChartainVillers	N	44,6	78,0	11,5	76,0	27,1
NILA	2007	a/b	ChartainVillers	N+	45,5	79,5	12,9	87,0	28,9
NILA	2007	a/b	Clermont-Ferrand	N	46,4	79,5	11,2	68,0	21,5
NILA	2007	a/b	Clermont-Ferrand	N+	49,6	81,0	11,0	72,0	21,7
NILA	2007	a/b	Estrées-Mons	N	32,6	71,5	13,6	56,0	65,3
NILA	2007	a/b	Estrées-Mons	N+	36,3	71,0	13,8	67,0	67,5
NILA	2007	a/b	Louville	N	44,4	78,0	11,0	74,0	30,6
NILA	2007	a/b	Louville	N+	43,9	79,5	13,2	80,0	50,1
NILA	2007	a/b	Mons	N	46,2	79,5	11,7	80,0	32,6
NILA	2007	a/b	Mons	N+	43,2	78,0	12,6	78,0	33,8
NILA	2007	a/b	Le Moulon	N	47,4	77,0	12,5	76,0	29,1
NILA	2007	a/b	Le moulon	N+	43,9	75,0	13,6	73,0	34,9
NILA	2007	a/b	Rennes	N	33,5	73,0	11,5	53,0	28,2
NILA	2007	a/b	Rennes	N+	32,7	71,5	12,9	60,0	35,7

Annexe 1 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2007 (Suite)

Lignée	Récolte	Allèle de PinB	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NILB	2007	a/a	ChartainVillers	N	38,4	77,5	11,8	13,0	25,5
NILB	2007	a/a	ChartainVillers	N+	41,1	78,0	12,6	16,0	26,0
NILB	2007	a/a	Clermont-Ferrand	N	37,6	77,5	12,0	18,0	17,9
NILB	2007	a/a	Clermont-Ferrand	N+	42,1	79,5	11,6	18,0	15,6
NILB	2007	a/a	Estrées-Mons	N	37,9	77,0	12,7	7,0	30,0
NILB	2007	a/a	Estrées-Mons	N+	35,7	75,0	13,4	14,0	30,1
NILB	2007	a/a	Louville	N	40,8	77,5	11,3	12,0	20,4
NILB	2007	a/a	Louville	N+	40,8	77,5	13,2	17,0	27,4
NILB	2007	a/a	Mons	N	39,7	77,5	11,3	17,0	24,1
NILB	2007	a/a	Mons	N+	38,9	77,0	11,6	13,0	21,9
NILB	2007	a/a	Le Moulon	N	37,9	75,0	12,1	14,0	26,8
NILB	2007	a/a	Le moulon	N+	35,0	73,5	12,8	11,0	28,9
NILB	2007	a/a	Rennes	N	35,2	75,0	11,2	2,0	18,9
NILB	2007	a/a	Rennes	N+	33,4	75,5	12,1	8,0	22,0
NILB	2007	a/b	ChartainVillers	N	38,7	78,0	11,3	63,0	26,6
NILB	2007	a/b	ChartainVillers	N+	41,8	78,5	12,8	56,0	29,8
NILB	2007	a/b	Clermont-Ferrand	N	39,1	79,0	11,2	51,0	22,2
NILB	2007	a/b	Clermont-Ferrand	N+	43,0	79,5	11,5	55,0	22,6
NILB	2007	a/b	Estrées-Mons	N	36,5	77,0	12,7	46,0	61,8
NILB	2007	a/b	Estrées-Mons	N+	33,7	75,0	13,4	45,0	69,1
NILB	2007	a/b	Louville	N	40,3	77,5	11,3	64,0	27,6
NILB	2007	a/b	Louville	N+	42,2	78,0	13,0	60,0	32,6
NILB	2007	a/b	Mons	N	38,8	76,5	11,3	59,0	28,1
NILB	2007	a/b	Mons	N+	37,5	77,5	12,0	54,0	34,3
NILB	2007	a/b	Le Moulon	N	35,7	74,5	11,9	53,0	31,8
NILB	2007	a/b	Le moulon	N+	34,1	74,5	12,9	47,0	35,4
NILB	2007	a/b	Rennes	N	33,4	75,0	10,3	47,0	22,8
NILB	2007	a/b	Rennes	N+	32,1	73,0	12,5	46,0	36,4

## Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2008

Lignée	Récolte	allèle de Pinb	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NILA	2008	a/a	Cappelle	N	48,5	78,0	12,0	27,0	23,7
NILA	2008	a/a	Cappelle	N+	47,8	78,0	11,5	24,0	22,2
NILA	2008	a/a	Cappelle	N	48,6	77,5	12,1	30,0	25,1
NILA	2008	a/a	Cappelle	N+	49,8	77,5	11,8	24,0	22,4
NILA	2008	a/a	Clermont-Ferrand	N	43,0	80,0	11,6	35,0	26,7
NILA	2008	a/a	Clermont-Ferrand	N+	48,4	80,5	12,5	27,0	28,3
NILA	2008	a/a	Clermont-Ferrand	N	46,3	79,5	12,0	35,0	33,4
NILA	2008	a/a	Clermont-Ferrand	N+	45,1	80,0	12,6	26,0	34,9
NILA	2008	a/a	Estrées-Mons	N	45,9	81,5	11,5	35,0	42,3
NILA	2008	a/a	Estrées-Mons	N+	47,7	81,5	12,2	34,0	48,4
NILA	2008	a/a	Estrées-Mons	N	46,3	81,0	11,4	35,0	38,6
NILA	2008	a/a	Estrées-Mons	N+	47,2	82,0	12,1	41,0	45,2
NILA	2008	a/a	Estrées-St-Denis	N	45,4	82,5	11,1	34,0	48,0
NILA	2008	a/a	Estrées-St-Denis	N+	45,5	82,5	12,0	34,0	53,7
NILA	2008	a/a	Estrées-St-Denis	N	46,2	82,0	11,1	31,0	42,1
NILA	2008	a/a	Estrées-St-Denis	N+	44,9	82,0	12,3	30,0	46,8
NILA	2008	a/a	Maule	N	43,1	80,5	12,2	30,0	40,3
NILA	2008	a/a	Maule	N+	46,7	81,0	12,8	33,0	43,5
NILA	2008	a/a	Maule	N	41,5	80,0	13,0	35,0	50,9
NILA	2008	a/a	Maule	N+	42,4	80,0	12,9	32,0	46,7
NILA	2008	a/a	Orgeval	N	47,3	81,0	10,5	26,0	23,7
NILA	2008	a/a	Orgeval	N+	48,1	80,0	12,5	26,0	27,3
NILA	2008	a/a	Orgeval	N	47,3	79,5	10,7	25,0	21,0
NILA	2008	a/a	Orgeval	N+	47,8	80,0	13,1	24,0	28,2
NILA	2008	a/a	Rennes	N	44,5	82,0	11,4	28,0	43,7
NILA	2008	a/a	Rennes	N+	44,3	83,5	12,0	32,0	50,2
NILA	2008	a/a	Rennes	N	43,4	82,0	11,5	26,0	47,3
NILA	2008	a/a	Rennes	N+	42,1	83,0	12,8	33,0	49,8

Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2008 (suite 1)

Lignée	Récolte	allèle de Pinb	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NILA	2008	a/b	Cappelle	N	43,1	78,0	10,5	61,0	23,7
NILA	2008	a/b	Cappelle	N+	46,0	79,5	11,3	67,0	24,8
NILA	2008	a/b	Cappelle	N	48,3	77,5	10,7	62,0	23,2
NILA	2008	a/b	Cappelle	N+	48,4	77,0	11,2	63,0	22,8
NILA	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N	44,4	81,5	12,0	72,0	52,9
NILA	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N+	45,3	81,5	12,9	65,0	60,4
NILA	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N	46,1	80,0	11,7	70,0	41,1
NILA	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N+	43,8	80,5	12,3	73,0	49,0
NILA	2008	a/b	Estrées-Mons	N	44,8	82,0	11,9	72,0	60,2
NILA	2008	a/b	Estrées-Mons	N+	46,2	82,5	12,9	76,0	79,3
NILA	2008	a/b	Estrées-Mons	N	49,3	81,5	11,5	78,0	56,4
NILA	2008	a/b	Estrées-Mons	N+	49,7	81,5	12,3	73,0	67,7
NILA	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N	44,6	83,0	11,3	72,0	60,6
NILA	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N+	43,8	83,5	12,3	68,0	72,3
NILA	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N	47,3	82,5	10,6	69,0	51,3
NILA	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N+	44,9	82,5	11,7	67,0	68,2
NILA	2008	a/b	Maule	N	44,8	82,0	12,5	67,0	70,3
NILA	2008	a/b	Maule	N+	43,5	82,0	13,7	72,0	73,4
NILA	2008	a/b	Maule	N	45,0	80,0	12,7	79,0	65,9
NILA	2008	a/b	Maule	N+	43,5	79,5	13,9	70,0	71,0
NILA	2008	a/b	Orgeval	N	46,5	81,5	11,4	66,0	36,9
NILA	2008	a/b	Orgeval	N+	46,7	82,0	12,9	67,0	56,7
NILA	2008	a/b	Orgeval	N	47,7	79,0	9,8	61,0	29,8
NILA	2008	a/b	Orgeval	N+	46,7	79,0	12,7	61,0	44,8
NILA	2008	a/b	Rennes	N	41,9	84,0	11,6	66,0	74,6
NILA	2008	a/b	Rennes	N+	41,5	84,0	12,7	55,0	79,3
NILA	2008	a/b	Rennes	N	45,3	82,0	12,2	63,0	73,6
NILA	2008	a/b	Rennes	N+	46,4	83,0	12,5	63,0	75,2

Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2008 (suite 2)

Lignée	Récolte	allèle de Pinb	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NILB	2008	a/a	Cappelle	N	41,5	77,0	10,2	17,0	21,4
NILB	2008	a/a	Cappelle	N+	42,4	77,0	11,2	21,0	23,4
NILB	2008	a/a	Clermont-Ferrand	N	42,5	80,0	11,5	35,0	29,4
NILB	2008	a/a	Clermont-Ferrand	N+	41,6	79,5	12,5	27,0	29,5
NILB	2008	a/a	Estrées-Mons	N	40,3	81,0	10,8	27,0	38,2
NILB	2008	a/a	Estrées-Mons	N+	40,2	81,5	11,5	31,0	46,7
NILB	2008	a/a	Estrées-St-Denis	N	40,0	82,0	10,9	31,0	46,0
NILB	2008	a/a	Estrées-St-Denis	N+	38,5	82,0	11,5	23,0	51,4
NILB	2008	a/a	Maule	N	39,0	81,0	11,6	25,0	48,2
NILB	2008	a/a	Maule	N+	40,7	79,5	12,8	30,0	55,3
NILB	2008	a/a	Orgeval	N	39,4	78,5	10,8	21,0	23,4
NILB	2008	a/a	Orgeval	N+	39,8	77,5	12,0	17,0	23,6
NILB	2008	a/a	Rennes	N	35,4	82,5	11,5	20,0	51,7
NILB	2008	a/a	Rennes	N+	36,8	83,0	11,9	29,0	51,6
NILB	2008	a/b	Cappelle	N	38,4	77,5	9,9	51,0	23,1
NILB	2008	a/b	Cappelle	N+	44,0	78,0	11,3	55,0	23,9
NILB	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N	41,4	80,0	11,2	77,0	42,9
NILB	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N+	39,9	80,0	12,5	69,0	47,1
NILB	2008	a/b	Estrées-Mons	N	38,3	81,0	10,5	60,0	57,8
NILB	2008	a/b	Estrées-Mons	N+	41,4	81,0	11,6	70,0	71,9
NILB	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N	39,7	82,5	10,8	72,0	68,2
NILB	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N+	36,4	82,0	11,5	60,0	69,8
NILB	2008	a/b	Maule	N	35,5	79,5	11,9	63,0	68,4
NILB	2008	a/b	Maule	N+	37,1	79,5	12,7	63,0	68,8
NILB	2008	a/b	Orgeval	N	40,1	78,5	10,3	57,0	32,6
NILB	2008	a/b	Orgeval	N+	36,4	78,0	12,6	56,0	44,8
NILB	2008	a/b	Rennes	N	35,5	81,5	11,6	54,0	75,3
NILB	2008	a/b	Rennes	N+	38,7	83,0	11,6	61,0	71,5

Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2008 (suite 2)

Lignée	Récolte	allèle de Pinb	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NIL1	2008	a/b	Cappelle	N	45,5	78,0	12,4	80,0	37,2
NIL1	2008	a/b	Cappelle	N+	46,8	79,5	13,6	83,0	42,8
NIL1	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N	43,5	80,0	12,3	87,0	66,5
NIL1	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N+	43,0	80,5	13,8	81,0	73,2
NIL1	2008	a/b	Estrées-Mons	N	45,8	81,0	11,9	81,0	62,9
NIL1	2008	a/b	Estrées-Mons	N+	47,4	79,5	13,2	84,0	76,7
NIL1	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N	45,3	83,0	12,0	91,0	62,3
NIL1	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N+	48,1	82,5	12,7	85,0	68,5
NIL1	2008	a/b	Maule	N	45,8	80,0	14,1	80,0	73,2
NIL1	2008	a/b	Maule	N+	43,5	80,5	14,8	86,0	80,0
NIL1	2008	a/b	Orgeval	N	46,7	80,0	11,8	76,0	54,0
NIL1	2008	a/b	Orgeval	N+	48,0	80,5	14,0	86,0	68,8
NIL1	2008	a/b	Rennes	N	44,2	83,5	12,0	63,0	69,3
NIL1	2008	a/b	Rennes	N+	43,0	83,5	12,8	83,0	74,5
NIL1	2008	a/d	Cappelle	N	43,7	78,0	11,9	68,0	34,7
NIL1	2008	a/d	Cappelle	N+	45,6	78,5	13,1	69,0	31,3
NIL1	2008	a/d	Clermont-Ferrand	N	43,2	78,5	12,8	80,0	61,7
NIL1	2008	a/d	Clermont-Ferrand	N+	41,8	79,5	13,5	80,0	67,9
NIL1	2008	a/d	Estrées-Mons	N	44,7	79,5	11,6	76,0	53,3
NIL1	2008	a/d	Estrées-Mons	N+	46,8	81,0	13,2	79,0	69,7
NIL1	2008	a/d	Estrées-St-Denis	N	44,7	81,5	11,4	77,0	59,8
NIL1	2008	a/d	Estrées-St-Denis	N+	44,2	81,0	12,1	70,0	69,6
NIL1	2008	a/d	Maule	N	42,1	80,0	13,9	65,0	65,8
NIL1	2008	a/d	Maule	N+	45,8	81,5	14,2	82,0	73,1
NIL1	2008	a/d	Orgeval	N	48,1	79,5	11,7	65,0	44,1
NIL1	2008	a/d	Orgeval	N+	49,2	80,0	13,2	77,0	56,0
NIL1	2008	a/d	Rennes	N	43,7	83,0	11,6	57,0	58,9
NIL1	2008	a/d	Rennes	N+	45,6	83,0	11,9	68,0	63,4

Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2008 (suite 4)

Lignée	Récolte	allèle de Pinb	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NIL2	2008	a/b	Cappelle	N	46,9	78,0	11,3	71,0	25,6
NIL2	2008	a/b	Cappelle	N+	47,2	78,0	10,8	74,0	23,8
NIL2	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N	44,4	79,5	10,7	77,0	48,6
NIL2	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N+	47,2	80,0	12,2	82,0	52,9
NIL2	2008	a/b	Estrées-Mons	N	46,4	81,0	10,8	80,0	55,8
NIL2	2008	a/b	Estrées-Mons	N+	48,0	82,0	11,5	83,0	67,8
NIL2	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N	48,8	83,0	10,9	79,0	56,4
NIL2	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N+	47,3	83,0	10,9	77,0	57,1
NIL2	2008	a/b	Maule	N	41,8	81,0	12,3	84,0	63,4
NIL2	2008	a/b	Maule	N+	43,9	80,5	12,6	90,0	65,8
NIL2	2008	a/b	Orgeval	N	46,5	79,5	11,0	73,0	33,4
NIL2	2008	a/b	Orgeval	N+	48,8	80,0	11,5	91,0	42,0
NIL2	2008	a/b	Rennes	N	43,9	83,0	11,0	81,0	56,9
NIL2	2008	a/b	Rennes	N+	42,6	83,0	12,1	81,0	65,3
NIL2	2008	a/d	Cappelle	N	45,9	78,5	10,5	62,0	23,4
NIL2	2008	a/d	Cappelle	N+	47,0	78,5	10,7	61,0	23,4
NIL2	2008	a/d	Clermont-Ferrand	N	46,5	80,0	11,0	85,0	36,6
NIL2	2008	a/d	Clermont-Ferrand	N+	47,3	80,5	12,3	67,0	48,1
NIL2	2008	a/d	Estrées-Mons	N	49,7	82,0	11,2	74,0	54,7
NIL2	2008	a/d	Estrées-Mons	N+	46,1	82,5	11,7	72,0	63,1
NIL2	2008	a/d	Estrées-St-Denis	N	48,6	83,0	10,6	79,0	49,1
NIL2	2008	a/d	Estrées-St-Denis	N+	48,9	82,0	10,6	79,0	54,9
NIL2	2008	a/d	Maule	N	42,4	79,5	12,4	77,0	63,0
NIL2	2008	a/d	Maule	N+	39,4	79,5	12,7	81,0	65,7
NIL2	2008	a/d	Orgeval	N	46,8	79,0	10,2	64,0	27,6
NIL2	2008	a/d	Orgeval	N+	47,9	79,5	11,6	88,0	37,3
NIL2	2008	a/d	Rennes	N	42,8	84,0	11,0	68,0	53,3
NIL2	2008	a/d	Rennes	N+	43,1	83,5	12,1	75,0	62,9



Annexe 2 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2008 (suite 5)

Lignée	Récolte	allèle de Pinb	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NIL3	2008	a/b	Cappelle	N	50,2	78,5	9,7	66,0	22,7
NIL3	2008	a/b	Cappelle	N+	50,0	79,0	11,2	78,0	26,8
NIL3	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N	49,4	80,5	12,2	95,0	57,7
NIL3	2008	a/b	Clermont-Ferrand	N+	48,2	80,5	13,0	80,0	67,4
NIL3	2008	a/b	Estrées-Mons	N	48,8	82,0	11,5	66,0	67,6
NIL3	2008	a/b	Estrées-Mons	N+	46,6	82,0	11,9	91,0	58,0
NIL3	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N	52,0	82,5	11,0	87,0	60,5
NIL3	2008	a/b	Estrées-St-Denis	N+	49,9	82,5	11,9	81,0	62,4
NIL3	2008	a/b	Maule	N	48,3	81,0	13,7	86,0	73,8
NIL3	2008	a/b	Maule	N+	47,0	80,5	13,3	81,0	77,6
NIL3	2008	a/b	Orgeval	N	53,1	81,0	11,4	88,0	44,6
NIL3	2008	a/b	Orgeval	N+	53,3	82,0	12,1	96,0	55,7
NIL3	2008	a/b	Rennes	N	54,6	84,5	11,1	79,0	49,5
NIL3	2008	a/b	Rennes	N+	52,8	84,0	12,0	103,0	56,5
NIL3	2008	a/d	Cappelle	N	49,5	78,0	9,9	65,0	22,5
NIL3	2008	a/d	Cappelle	N+	51,8	79,5	10,5	74,0	26,7
NIL3	2008	a/d	Clermont-Ferrand	N	50,8	80,5	12,0	89,0	57,4
NIL3	2008	a/d	Clermont-Ferrand	N+	48,5	81,0	12,5	73,0	61,9
NIL3	2008	a/d	Estrées-Mons	N	50,7	82,0	12,8	72,0	63,1
NIL3	2008	a/d	Estrées-Mons	N+	51,3	82,5	11,8	84,0	65,0
NIL3	2008	a/d	Estrées-St-Denis	N	50,0	83,0	11,0	91,0	57,8
NIL3	2008	a/d	Estrées-St-Denis	N+	49,7	83,0	11,2	78,0	58,8
NIL3	2008	a/d	Maule	N	46,0	81,0	13,8	72,0	77,6
NIL3	2008	a/d	Maule	N+	41,8	79,5	14,1	77,0	74,3
NIL3	2008	a/d	Orgeval	N	52,2	81,5	11,1	67,0	39,1
NIL3	2008	a/d	Orgeval	N+	53,8	80,0	12,8	100,0	52,5
NIL3	2008	a/d	Rennes	N	51,1	84,5	11,1	83,0	51,6
NIL3	2008	a/d	Rennes	N+	52,3	84,5	12,3	86,0	62,4

Annexe 3 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2009

Lignée	Récolte	Allèle de PinB	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NILA	2009	a/a	Auchy	N	45,2	81,5	11,5	35,0	27,9
NILA	2009	a/a	Clermont-Ferrand	N	44,2	81,4	11,7	27,0	37,0
NILA	2009	a/a	Clermont-Ferrand	N+	43,6	78,7	11,2	28,0	34,5
NILA	2009	a/a	Estrées-Mons	N	46,8	81,0	11,5	26,0	24,7
NILA	2009	a/a	Estrées-Mons	N+	47,1	82,5	12,9	29,0	41,2
NILA	2009	a/a	Froissy	N	47,0	79,4	11,6	5,0	29,0
NILA	2009	a/a	Froissy	N+	47,9	82,5	12,4	18,0	47,1
NILA	2009	a/a	Milly	N	45,3	78,2	11,2	10,0	9,5
NILA	2009	a/a	Milly	N+	48,5	76,9	12,9	17,0	18,8
NILA	2009	a/a	Le Moulon	N	46,0	78,2	10,7	4,0	11,3
NILA	2009	a/a	Le Moulon	N+	48,1	79,6	12,3	14,0	18,1
NILA	2009	a/a	Rennes	N	43,7	76,4	10,9	17,0	24,9
NILA	2009	a/a	Rennes	N+	41,0	78,1	12,7	19,0	41,0
NILA	2009	a/b	Auchy	N	43,4	81,5	11,6	75,0	42,5
NILA	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N	42,4	81,5	11,8	65,0	49,5
NILA	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N+	42,4	78,8	12,7	67,0	61,3
NILA	2009	a/b	Estrées-Mons	N	49,7	81,5	11,0	62,0	30,3
NILA	2009	a/b	Estrées-Mons	N+	48,4	83,0	12,8	74,0	53,3
NILA	2009	a/b	Froissy	N	46,8	73,0	11,6	59,0	41,4
NILA	2009	a/b	Froissy	N+	45,3	82,0	12,2	64,0	55,2
NILA	2009	a/b	Milly	N	43,7	78,6	11,3	56,0	15,1
NILA	2009	a/b	Milly	N+	47,7	78,4	12,5	56,0	28,8
NILA	2009	a/b	Le Moulon	N	47,1	77,9	10,0	50,0	11,5
NILA	2009	a/b	Le Moulon	N+	47,9	79,8	11,7	59,0	19,6
NILA	2009	a/b	Rennes	N	44,6	76,9	10,7	43,0	25,9
NILA	2009	a/b	Rennes	N+	41,7	78,0	12,4	48,0	43,4

Annexe 3 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2009 (suite 1)

Lignée	Récolte	Allèle de PinB	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NILB	2009	a/a	Auchy	N	38,8	79,5	11,1	35,0	21,7
NILB	2009	a/a	Clermont-Ferrand	N	38,5	79,5	11,2	22,0	18,0
NILB	2009	a/a	Clermont-Ferrand	N+	39,3	73,9	11,5	24,0	29,2
NILB	2009	a/a	Estrées-Mons	N	43,3	80,0	10,9	20,0	15,0
NILB	2009	a/a	Estrées-Mons	N+	45,3	80,5	11,8	23,0	24,1
NILB	2009	a/a	Froissy	N	41,3	77,7	10,9	7,0	16,8
NILB	2009	a/a	Froissy	N+	42,8	81,0	12,1	11,0	34,7
NILB	2009	a/a	Milly	N	41,7	76,4	11,2	10,0	4,8
NILB	2009	a/a	Milly	N+	42,9	77,1	12,1	13,0	8,3
NILB	2009	a/a	Le Moulon	N	43,9	76,2	10,5	7,0	6,0
NILB	2009	a/a	Le Moulon	N+	44,5	76,4	12,3	12,0	16,2
NILB	2009	a/a	Rennes	N	40,4	76,4	10,4	14,0	12,4
NILB	2009	a/a	Rennes	N+	35,4	76,4	12,0	13,0	30,5
NILB	2009	a/b	Auchy	N	40,7	79,5	10,6	71,0	26,6
NILB	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N	38,6	79,7	11,1	59,0	35,3
NILB	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N+	39,7	76,1	11,1	65,0	40,3
NILB	2009	a/b	Estrées-Mons	N	41,9	80,0	10,3	50,0	16,4
NILB	2009	a/b	Estrées-Mons	N+	45,2	80,0	11,6	64,0	26,9
NILB	2009	a/b	Froissy	N	41,8	77,8	10,3	52,0	23,1
NILB	2009	a/b	Froissy	N+	42,5	81,0	12,0	45,0	48,8
NILB	2009	a/b	Milly	N	39,2	76,7	11,2	48,0	12,5
NILB	2009	a/b	Milly	N+	40,2	77,3	11,9	55,0	18,6
NILB	2009	a/b	Le Moulon	N	40,4	76,4	10,2	47,0	11,1
NILB	2009	a/b	Le Moulon	N+	46,1	75,0	12,0	57,0	26,6
NILB	2009	a/b	Rennes	N	41,8	76,8	10,5	49,0	24,4
NILB	2009	a/b	Rennes	N+	36,4	77,0	11,8	52,0	37,3

Annexe 3 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2009 (suite 2)

Lignée	Récolte	Allèle de PinB	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NIL1	2009	a/b	Auchy	N	43,9	82,0	11,3	74,0	37,8
NIL1	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N	41,3	78,9	11,6	83,0	45,6
NIL1	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N+	41,5	79,0	11,3	67,0	42,6
NIL1	2009	a/b	Estrées-Mons	N	48,0	81,0	11,1	74,0	49,3
NIL1	2009	a/b	Estrées-Mons	N+	48,5	82,5	13,0	86,0	61,2
NIL1	2009	a/b	Froissy	N	46,7	79,2	10,8	68,0	34,2
NIL1	2009	a/b	Froissy	N+	47,4	83,0	12,4	64,0	64,5
NIL1	2009	a/b	Milly	N	43,9	79,3	11,0	54,0	21,8
NIL1	2009	a/b	Milly	N+	46,6	79,8	12,6	71,0	37,5
NIL1	2009	a/b	Le Moulon	N	43,1	75,0	10,3	64,0	18,3
NIL1	2009	a/b	Le Moulon	N+	46,2	77,5	11,9	70,0	18,3
NIL1	2009	a/b	Rennes	N	43,8	76,9	9,5	56,0	23,2
NIL1	2009	a/b	Rennes	N+	41,8	77,7	11,9	63,0	52,5
NIL1	2009	a/d	Auchy	N	42,8	81,5	10,9	71,0	45,4
NIL1	2009	a/d	Clermont-Ferrand	N	42,3	79,1	11,4	70,0	40,3
NIL1	2009	a/d	Clermont-Ferrand	N+	42,1	77,1	11,3	73,0	42,7
NIL1	2009	a/d	Estrées-Mons	N	49,2	81,5	10,9	76,0	34,2
NIL1	2009	a/d	Estrées-Mons	N+	50,1	82,0	12,1	70,0	52,6
NIL1	2009	a/d	Froissy	N	46,8	78,5	10,8	56,0	33,8
NIL1	2009	a/d	Froissy	N+	46,2	82,5	11,9	61,0	61,1
NIL1	2009	a/d	Milly	N	44,4	77,8	11,1	55,0	22,5
NIL1	2009	a/d	Milly	N+	48,0	78,2	12,4	65,0	37,9
NIL1	2009	a/d	Le Moulon	N	48,1	75,5	9,8	54,0	20,6
NIL1	2009	a/d	Le Moulon	N+	48,4	77,9	11,5	66,0	45,6
NIL1	2009	a/d	Rennes	N	46,0	77,6	9,5	51,0	23,8
NIL1	2009	a/d	Rennes	N+	44,8	78,6	11,8	61,0	52,8

Annexe 3 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2009 (suite 3)

Lignée	Récolte	Allèle de PinB	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NIL2	2009	a/b	Auchy	N	45,6	80,5	10,9	73,0	24,7
NIL2	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N	46,6	79,6	11,2	65,0	19,3
NIL2	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N+	47,1	72,4	11,4	58,0	26,2
NIL2	2009	a/b	Estrées-Mons	N	51,0	80,5	11,2	64,0	17,8
NIL2	2009	a/b	Estrées-Mons	N+	52,5	80,0	12,3	74,0	23,1
NIL2	2009	a/b	Froissy	N	50,1	79,4	10,9	56,0	26,2
NIL2	2009	a/b	Froissy	N+	52,6	81,5	12,2	74,0	48,9
NIL2	2009	a/b	Milly	N	47,9	76,8	11,2	40,0	11,6
NIL2	2009	a/b	Milly	N+	50,0	76,9	12,1	56,0	19,9
NIL2	2009	a/b	Le Moulon	N	48,3	77,2	10,3	48,0	8,7
NIL2	2009	a/b	Le Moulon	N+	47,9	77,9	12,2	65,0	23,3
NIL2	2009	a/b	Rennes	N	47,2	76,8	10,3	65,0	22,7
NIL2	2009	a/b	Rennes	N+	43,7	78,2	11,6	56,0	40,9
NIL2	2009	a/d	Auchy	N	45,9	80,5	11,0	70,0	25,8
NIL2	2009	a/d	Clermont-Ferrand	N	47,6	79,5	10,9	61,0	20,4
NIL2	2009	a/d	Clermont-Ferrand	N+	46,2	74,4	11,1	59,0	20,4
NIL2	2009	a/d	Estrées-Mons	N	50,2	79,5	10,7	55,0	8,6
NIL2	2009	a/d	Estrées-Mons	N+	53,0	81,0	12,1	68,0	23,6
NIL2	2009	a/d	Froissy	N	50,7	79,8	11,3	68,0	27,1
NIL2	2009	a/d	Froissy	N+	52,6	82,5	12,3	56,0	45,2
NIL2	2009	a/d	Milly	N	48,1	77,6	11,5	47,0	13,2
NIL2	2009	a/d	Milly	N+	49,9	77,4	12,0	52,0	16,7
NIL2	2009	a/d	Le Moulon	N	48,6	76,7	10,3	48,0	8,5
NIL2	2009	a/d	Le Moulon	N+	49,2	77,7	12,1	48,0	21,9
NIL2	2009	a/d	Rennes	N	46,6	76,9	10,2	60,0	20,8
NIL2	2009	a/d	Rennes	N+	41,8	78,0	11,4	55,0	39,8

Annexe 3 : Caractéristiques des échantillons de la récolte 2009 (suite 4)

Lignée	Récolte	Allèle de PinB	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)
NIL3	2009	a/b	Auchy	N	52,0	81,5	11,1	84,0	37,8
NIL3	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N	49,6	80,7	11,3	80,0	31,4
NIL3	2009	a/b	Clermont-Ferrand	N+	48,9	78,1	11,4	66,0	35,7
NIL3	2009	a/b	Estrées-Mons	N	54,9	81,5	11,2	78,0	31,2
NIL3	2009	a/b	Estrées-Mons	N+	56,9	82,0	13,0	87,0	54,0
NIL3	2009	a/b	Froissy	N	52,5	80,2	11,5	79,0	42,7
NIL3	2009	a/b	Froissy	N+	54,3	82,5	12,8	84,0	63,9
NIL3	2009	a/b	Milly	N	50,5	77,8	12,5	75,0	30,5
NIL3	2009	a/b	Milly	N+	52,6	78,2	12,8	74,0	32,7
NIL3	2009	a/b	Le Moulon	N	52,5	76,9	10,9	68,0	25,0
NIL3	2009	a/b	Le Moulon	N+	54,2	80,0	13,0	73,0	51,2
NIL3	2009	a/b	Rennes	N	51,1	77,2	10,3	66,0	39,5
NIL3	2009	a/b	Rennes	N+	54,9	78,4	11,7	62,0	56,0
NIL3	2009	a/d	Auchy	N	48,9	82,0	10,5	84,0	31,1
NIL3	2009	a/d	Clermont-Ferrand	N	49,1	80,6	11,5	72,0	36,1
NIL3	2009	a/d	Clermont-Ferrand	N+	48,7	77,2	11,3	68,0	32,2
NIL3	2009	a/d	Estrées-Mons	N	52,7	81,0	11,2	70,0	28,5
NIL3	2009	a/d	Estrées-Mons	N+	56,2	81,5	12,7	85,0	45,5
NIL3	2009	a/d	Froissy	N	52,3	80,3	11,2	76,0	33,8
NIL3	2009	a/d	Froissy	N+	52,7	83,0	12,8	76,0	57,0
NIL3	2009	a/d	Milly	N	51,0	78,4	12,0	71,0	24,6
NIL3	2009	a/d	Milly	N+	52,0	77,8	12,7	56,0	31,0
NIL3	2009	a/d	Le Moulon	N	52,4	79,3	10,8	70,0	25,0
NIL3	2009	a/d	Le Moulon	N+	51,9	79,9	12,8	68,0	45,2
NIL3	2009	a/d	Rennes	N	51,4	77,4	9,7	60,0	24,8
NIL3	2009	a/d	Rennes	N+	52,3	80,4	11,8	68,0	57,7

Annexe 4 : Caractéristiques des grains et résultats de mouture des échantillons hard/soft de NILA et NILB

Lignée	Allèle de Pinb	Année de récolte	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)	Dureté (SKCS)	Farine B1 (%)	GSem B1 (%)	GSem (%)	FSem (%)	FCL/GSem (%)	FC1/FSem (%)	Sons (%)	Rem (%)	Rdt (%)
NILA	a/a	2007	CF	N	46,1	79,0	11,1	20,0	14,2	9,9	23,6	11,6	22,8	27,9	49,1	57,3	20,2	8,1	71,7
NILA	a/a	2007	CF	N+	48,4	79,5	11,5	19,0	13,9	7,0	23,9	11,9	18,3	32,6	39,1	68,6	20,4	6,1	73,5
NILA	a/a	2008	CF	N	43,0	80,0	11,6	35,0	26,7	26,2	20,1	15,7	22,4	38,7	41,7	74,5	17,8	5,8	76,3
NILA	a/a	2008	CF	N+	48,4	80,5	12,5	27,0	28,3	19,6	19,7	16,7	23,4	39,0	41,8	76,3	18,2	5,4	76,4
NILA	a/a	2007	EM	N	35,6	75,5	13,3	14,0	38,0	24,3	20,2	13,7	21,0	34,9	38,0	68,0	20,7	6,0	73,3
NILA	a/a	2007	EM	N+	34,9	74,0	13,6	17,0	57,3	43,5	18,8	14,7	22,3	37,1	38,3	69,5	20,4	6,4	73,2
NILA	a/a	2008	EM	N	45,9	81,5	11,5	35,0	42,3	27,7	20,2	16,2	22,5	38,9	40,5	73,0	18,0	6,5	75,5
NILA	a/a	2008	EM	N+	47,7	81,5	12,2	34,0	48,4	31,1	18,5	17,8	24,3	39,9	43,7	71,6	17,6	6,1	76,3
NILA	a/a	2007	RE	N	41,6	75,0	11,9	11,0	23,8	15,9	27,2	9,7	15,5	28,9	35,4	51,2	21,8	5,8	72,4
NILA	a/a	2007	RE	N+	36,2	74,0	12,8	7,0	25,8	19,3	23,6	10,2	16,7	30,3	34,3	60,0	22,4	6,9	70,7
NILA	a/a	2008	RE	N	44,5	82,0	11,4	28,0	43,7	24,2	19,9	15,6	22,0	37,8	40,7	73,5	19,2	7,3	73,6
NILA	a/a	2008	RE	N+	44,3	83,5	12,0	32,0	50,2	27,4	20,7	15,0	21,3	36,5	41,4	65,9	19,4	8,5	72,1
NILA	a/b	2007	CF	N	46,4	79,5	11,2	68,0	21,5	31,7	16,2	18,7	27,1	40,8	38,3	61,8	17,5	6,7	75,8
NILA	a/b	2007	CF	N+	49,6	81,0	11,0	72,0	21,7	41,4	16,0	19,0	27,4	42,5	40,2	77,7	16,8	5,6	77,6
NILA	a/b	2008	CF	N	44,4	81,5	12,0	72,0	52,9	61,6	13,8	20,3	29,5	47,5	35,8	75,9	16,0	6,3	77,8
NILA	a/b	2008	CF	N+	45,3	81,5	12,9	65,0	60,4	60,0	13,3	21,7	30,7	48,3	35,0	74,9	16,3	6,2	77,5
NILA	a/b	2007	EM	N	32,6	71,5	13,6	56,0	65,3	56,8	14,0	18,1	27,7	43,7	36,0	61,9	19,3	8,9	71,9
NILA	a/b	2007	EM	N+	36,3	71,0	13,8	67,0	67,5	45,3	13,0	18,3	28,3	44,2	36,4	64,5	19,2	7,7	73,1
NILA	a/b	2008	EM	N	44,8	82,0	11,9	72,0	60,2	64,6	13,6	19,8	29,3	48,2	33,2	74,0	16,5	6,5	77,0
NILA	a/b	2008	EM	N+	46,2	82,5	12,9	76,0	79,3	70,7	12,5	21,7	31,2	50,3	32,1	73,4	16,2	6,6	77,2
NILA	a/b	2007	RE	N	33,5	73,0	11,5	53,0	28,2	47,1	16,0	16,3	25,0	39,9	37,4	70,1	21,9	6,0	72,1
NILA	a/b	2007	RE	N+	32,7	71,5	12,9	60,0	35,7	50,4	12,7	17,6	28,1	44,8	35,1	62,4	19,0	8,8	72,3
NILA	a/b	2008	RE	N	41,9	84,0	11,6	66,0	74,6	72,2	11,4	20,4	30,6	49,0	33,6	73,9	17,4	6,9	75,7
NILA	a/b	2008	RE	N+	41,5	84,0	12,7	55,0	79,3	72,9	11,7	20,7	30,5	48,8	33,5	72,6	17,6	6,9	75,6

Annexe 4 : Caractéristiques des grains et résultats de mouture des échantillons hard/soft de NILA et NILB (suite)

Lignée	Allèle de Pinb	Année de récolte	Lieu	Azote	PMG (g)	PS (kg/hl)	Protéines (%)	Dureté (NIRS)	Vitrosité (%)	Dureté (SKCS)	Farine B1 (%)	GSem B1 (%)	GSem (%)	FSem (%)	FCL/GSem (%)	FC1/FSem (%)	Sons (%)	Rem (%)	Rdt (%)
NILB	a/a	2007	CF	N	37,6	77,5	12,0	18,0	17,9	2,1	29,1	10,1	15,0	28,3	37,7	64,9	20,9	5,3	73,8
NILB	a/a	2007	CF	N+	42,1	79,5	11,6	18,0	15,6	11,0	27,5	10,8	15,7	31,2	40,7	56,2	19,5	7,5	73,1
NILB	a/a	2008	CF	N	42,5	80,0	11,5	35,0	29,4	27,0	20,6	14,1	20,0	37,2	40,6	75,6	18,9	5,1	76,0
NILB	a/a	2008	CF	N+	41,6	79,5	12,5	27,0	29,5	24,4	19,6	14,8	21,2	38,9	38,8	74,8	18,6	5,7	75,8
NILB	a/a	2007	EM	N	37,9	77,0	12,7	7,0	30,0	19,6	24,5	13,4	18,9	32,1	42,7	67,8	20,2	5,7	74,1
NILB	a/a	2007	EM	N+	35,7	75,0	13,4	14,0	30,1	22,0	25,9	11,8	17,4	30,1	38,0	58,4	21,8	7,7	70,5
NILB	a/a	2008	EM	N	40,3	81,0	10,8	27,0	38,2	31,1	21,0	15,4	20,6	36,4	42,1	65,3	19,7	8,5	71,8
NILB	a/a	2008	EM	N+	40,2	81,5	11,5	31,0	46,7	33,4	20,1	16,7	22,2	37,7	42,0	78,9	19,0	5,0	76,1
NILB	a/a	2007	RE	N	35,2	75,0	11,2	2,0	18,9	16,2	26,4	10,3	15,8	28,7	36,8	64,7	21,7	5,2	73,1
NILB	a/a	2007	RE	N+	33,4	75,5	12,1	8,0	22,0	19,8	26,5	10,0	15,2	28,2	35,7	61,1	22,3	6,6	71,0
NILB	a/a	2008	RE	N	35,4	82,5	11,5	20,0	51,7	38,9	21,1	13,0	18,7	34,3	40,1	73,7	20,5	5,5	74,0
NILB	a/a	2008	RE	N+	36,8	83,0	11,9	29,0	51,6	33,3	20,4	14,1	19,9	36,2	40,3	73,9	19,8	6,8	73,5
NILB	a/b	2007	CF	N	39,1	79,0	11,2	51,0	22,2	27,9	18,7	16,5	23,3	39,4	42,0	70,7	18,1	5,7	76,2
NILB	a/b	2007	CF	N+	43,0	79,5	11,5	55,0	22,6	35,7	17,1	18,5	25,6	39,8	42,3	48,1	17,4	10,9	71,7
NILB	a/b	2008	CF	N	41,4	80,0	11,2	77,0	42,9	62,5	14,0	19,1	27,9	46,6	36,4	76,5	16,5	5,9	77,6
NILB	a/b	2008	CF	N+	39,9	80,0	12,5	69,0	47,1	58,3	12,7	20,2	29,5	48,0	36,6	70,8	16,3	6,7	77,0
NILB	a/b	2007	EM	N	36,5	77,0	12,7	46,0	61,8	47,8	14,1	20,6	28,9	44,5	38,3	61,4	18,0	8,9	73,2
NILB	a/b	2007	EM	N+	33,7	75,0	13,4	45,0	69,1	49,2	13,1	21,0	29,6	45,0	37,4	61,7	18,6	8,5	72,9
NILB	a/b	2008	EM	N	38,3	81,0	10,5	60,0	57,8	69,4	12,4	20,3	29,5	48,1	34,0	64,1	17,1	7,5	75,5
NILB	a/b	2008	EM	N+	41,4	81,0	11,6	70,0	71,9	70,2	12,3	20,9	29,6	48,3	33,5	76,0	17,7	6,1	76,2
NILB	a/b	2007	RE	N	33,4	75,0	10,3	47,0	22,8	48,4	17,2	15,9	23,3	39,0	41,0	70,5	20,0	6,0	74,0
NILB	a/b	2007	RE	N+	32,1	73,0	12,5	46,0	36,4	47,4	13,9	18,2	26,6	42,3	39,3	66,0	19,9	7,2	72,9
NILB	a/b	2008	RE	N	35,5	81,5	11,6	54,0	75,3	73,1	11,8	18,4	27,6	46,2	36,4	76,7	18,6	6,0	75,4
NILB	a/b	2008	RE	N+	38,7	83,0	11,6	61,0	71,5	68,8	11,7	19,7	29,2	47,7	36,4	75,6	17,3	6,4	76,3



Annexe 5 : Valeurs de vitrosité des grains, teneur en protéines, pourcentages relatifs des gliadines, gluténines, albumines et globulines, et fraction insolubles de protéines (FI) dans les grosses semoules analysées. a/b : Pina-D1a/Pinb-D1b ; a/d : Pina-D1a/Pinb-D1d ; CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; MA : Maule

Lignée	Puroindolines a et b	Lieu	Vitrosité (%)	Protéines des Gsem B1(% ms)	FCL/GSemB1 (%)	Albumines (%)	Gliadines (%)	Gluténines (%)	FI (%)
NIL1	a/b	CA	37,2	11,8	33,3	19,5	48,0	32,5	5,5
NIL1	a/b	CF	66,5	11,2	27,3	20,0	46,0	34,0	9,2
NIL1	a/b	MA	73,2	12,4	24,8	19,5	46,6	33,9	8,5
NIL1	a/d	CA	31,3	11,4	36,1	20,2	48,0	31,9	3,6
NIL1	a/d	CF	61,7	10,8	28,8	19,3	46,9	33,8	7,8
NIL1	a/d	MA	65,8	13,2	27,3	18,8	46,9	34,3	8,1
NIL2	a/b	CA	25,6	11,8	39,9	21,7	46,3	32,0	7,7
NIL2	a/b	CF	48,6	10,9	33,2	20,9	45,0	34,1	12,1
NIL2	a/b	MA	63,4	11,4	33,9	19,5	45,2	35,3	13,4
NIL2	a/d	CA	23,4	10,2	43,1	21,3	45,7	32,9	9,0
NIL2	a/d	CF	36,6	11,3	33,4	19,8	44,7	35,5	13,6
NIL2	a/d	MA	63,0	11,1	33,1	18,8	45,8	35,3	13,4
Apache	a/b	CA	8,7	11,2	41,0	19,9	44,3	35,8	9,8
Apache	a/b	CF	21,0	10,9	42,6	20,0	43,9	36,1	12,0
Apache	a/b	MA	67,4	11,6	35,3	18,1	44,9	37,0	13,6
Caphorn	a/b	CA	8,8	10,4	38,9	20,1	44,2	35,7	12,2
Caphorn	a/b	CF	41,8	10,8	35,0	19,3	45,0	35,6	14,4
Caphorn	a/b	MA	83,2	11,4	28,4	18,4	44,3	37,3	15,9
Orvantis	a/d	CA	24,7	10,3	35,7	21,5	44,6	33,8	7,4
Orvantis	a/d	CF	66,7	11,0	29,5	20,7	44,8	34,5	9,9
Orvantis	a/d	MA	74,2	11,3	26,8	19,8	44,7	35,5	10,7
Soissons	a/d	CA	24,2	11,2	44,9	22,0	45,7	32,3	9,3
Soissons	a/d	CF	40,7	11,8	40,6	19,0	45,2	35,8	15,9
Soissons	a/d	MA	59,4	12,3	39,4	17,8	45,6	36,7	17,5

Annexe 6 : Comparaison des pourcentages volumiques moyens des granules de types A, B et C des semoules. a, b : groupes homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%. a/b : Pina-D1a/Pinb-D1b ; a/d : Pina-D1a/Pinb-D1d ; CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; MA : Maule

Cultivar	Allèles de puroindoline-a et -b	Lieu	Type A (%)	Type B (%)	Type C (%)
NIL1	a/b	CA	77,0	19,4	3,6
NIL1	a/b	CF	73,4	10,5	16,2
NIL1	a/b	MA	73,1	13,9	13,0
NIL1	a/d	CA	68,1	16,8	15,1
NIL1	a/d	CF	68,2	25,1	6,7
NIL1	a/d	MA	72,1	13,4	14,5
NIL2	a/b	CA	72,5	9,6	17,9
NIL2	a/b	CF	61,4	25,1	13,5
NIL2	a/b	MA	61,7	30,7	7,6
NIL2	a/d	CA	71,4	11,4	17,2
NIL2	a/d	CF	59,5	24,5	16,0
NIL2	a/d	MA	59,5	22,8	17,7
Apache	a/b	CA	65,7	19,0	15,4
Apache	a/b	CF	65,1	18,1	16,7
Apache	a/b	MA	67,5	15,7	16,9
Caphorn	a/b	CA	71,1	14,1	14,8
Caphorn	a/b	CF	71,5	14,1	14,4
Caphorn	a/b	MA	70,9	13,5	15,6
Orvantis	a/d	CA	69,4	15,3	12,3
Orvantis	a/d	CF	71,5	13,6	14,9
Orvantis	a/d	MA	72,3	13,0	14,7
Soissons	a/d	CA	58,9	34,2	6,9
Soissons	a/d	CF	68,4	12,0	19,6
Soissons	a/d	MA	69,5	16,9	13,6

Annexe 7 : Valeurs de vitrosité, teneur en puroindoline-a, puroindoline-b et puroindolines a+b autour des granules d'amidon des échantillons de NIL1 et NIL2. da : données aberrantes, non exploitées ; a/b : Pina-D1a/Pinb-D1b ; a/d : Pina-D1a/Pinb-D1d ; CA : Cappelle ; MA : Maule

<b>Lignée</b>	<b>Alèles de puroindoline-a et -b</b>	<b>lieu</b>	<b>Vitrosité (%)</b>	<b>Pin-A (mg/g)</b>	<b>Pin-B (mg/g)</b>	<b>PIN-A+PIN-B (mg/g)</b>
NIL1	a/b	CA	37,2	1,23	0,37	1,60
NIL1	a/b	MA	73,2	1,40	0,37	1,77
NIL1	a/d	CA	31,3	1,69	0,35	2,04
NIL1	a/d	MA	65,8	1,43	0,28	1,71
NIL2	a/b	CA	25,6	1,84	0,35	2,19
NIL2	a/b	MA	63,4	1,97	0,34	2,30
NIL2	a/d	CA	23,4	1,99	0,32	2,31
NIL2	a/d	MA	63,0	da	da	da

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Coupe longitudinale et transversale d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005) .....	10
Figure 2: Structure de l'amylose et de l'amylopectine .....	12
Figure 3: Structure des arabinoxylyanes .....	14
Figure 4: Alignement des séquences des puroindolines a et b du blé par le logiciel CLUSTAL W .....	18
Figure 5: Simulation de la composition et de la structure e l'albumen .....	34
Figure 6: Caractérisation mécanique des composés de l'albumen .....	34
Figure 7: Mode de dissociation de l'albumen en fonction de la teneur en protéines et du facteur d'adhésion entre amidon et protéines .....	35
Figure 8: Départements de culture du matériel végétal : en rouge les lieux fixes sur les 3 années, en bleu les lieux variables .....	37
Figure 9: Mini moulin .....	41
Figure 10: Diagramme de mouture du mini moulin.....	41
Figure 11: Chromatogramme des protéines solubles dans le SDS.....	43
Figure 12: Chromatogramme des protéines insolubles dans le SDS .....	44
Figure 13: Relation entre la Dureté NIRS et la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2007. CH : Chartrainvilliers ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; LO : Louville ; MO : Mons ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes. Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b .....	49
Figure 14: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2007, en fonction de la combinaison d'allèles de puroindolines : Pinb-D1a représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b représente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b .....	51
Figure 15: Variabilité de la vitrosité des lignées NILA et NILB en fonction des lieux de culture de la récolte 2007. CH : Chartrainvilliers ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; LO : Louville ; MO : Mons ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes.....	52
Figure 16: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2007 en fonction du niveau d'azote. ....	52
Figure 17: Relation entre la teneur en protéines et la vitrosité des grains des échantillons de NILA et NILB de la récolte 200 : Pinb-D1a represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b.....	53
Figure 18: Relation entre la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes. ....	55
Figure 19: Relation la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes. ....	56
Figure 20: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008, en fonction des combinaisons d'allèles de Puroindolines : Pinb-D1a represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b .....	57
Figure 21: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008, sur les lieux de culture. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes. ....	58
Figure 22: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008, en fonction du niveau d'azote. ....	58
Figure 23: Variabilité de la dureté NIRS des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008 en fonction des combinaisons d'allèles de puroindolines : Pinb-D1b represente la	

combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d .....	60
Figure 24: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008 en fonction des lieux de culture. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; OR : Orgeval ; RE : Rennes.....	61
Figure 25: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008 en fonction du niveau d'azote .....	61
Figure 26: Variabilité de la vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008, en fonction de la combinaison d'allèles de Puroindolines : Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d .....	62
Figure 27: Relation entre la teneur en protéines et la vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2008 : Pinb-D1a represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b. ....	63
Figure 28: Relation entre vitrosité et teneur en protéines des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008 : Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d .....	64
Figure 29: Relation entre la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NILA et NILB de la récolte 2009. Les codes lieux sont : AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes. Pinb-D1a represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b.....	66
Figure 30: Relation entre la Dureté NIRS et la Vitrosité des échantillons de NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2009. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes : Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d .....	66
Figure 31: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2009 en fonction du niveau d'azote. ....	68
Figure 32: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2009 en fonction de la combinaison d'allèle de Puroindolines : Pinb-D1a represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b. .....	69
Figure 33: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB de la récolte 2009 en fonction du lieu de culture. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes .....	69
Figure 34: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009 en fonction du niveau d'azote .....	70
Figure 35: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009 en fonction de la combinaison d'allèles de Puroindolines. Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d. .....	71
Figure 36: Variabilité de la vitrosité des échantillons des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009 en fonction du lieu de culture. Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes .....	71
Figure 37: Relation entre Vitrosité et teneur en protéines des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009. Pinb-D1a represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1a ; Pinb-D1b	

represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes ..	72
Figure 38: Relation entre vitrosité et teneur en protéines des échantillons de NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2009. Pinb-D1b represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1b ; Pinb-D1d represente la combinaison Pina-D1a/Pinb-D1d. AU : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; ESD : Estrées-Saint-Denis ; MA : Maule ; LM : Le Moulon ; RE : Rennes ..	73
Figure 39: Correlation between grain vitreousness and endosperm size reduction ability at first break (ERA1). Data are from <i>Soissons</i> which carries Pinb-D1d (*), NIL1-Pinb-D1b (□), NIL1-Pinb-D1d (■), NIL2-Pinb-D1b (○), NIL2-Pinb-D1d (●), NIL3-Pinb-D1b (△), NIL3-Pinb-D1d (▲). Equations of regression lines for the different genotypes are respectively: ....	99
Figure 40: Percentage of volumes of farina particles according to their size after reduction. Experimental data from NIL1-Pinb-D1b grown in two distinct locations (without nitrogen addition) which results in vitreous (squares) or non vitreous endosperm (diamond-shaped). Example of modelling curves (B) for the vitreous sample of NIL-Pinb-D1b. Squares are the experimental data, four peaks are generated by mathematical treatment of the data and correspond either to large particles (crosses), medium-size particles (round), small particles (diamond shaped) and to the finest particles (not shown at this representation scale as it only corresponds to less than 1.3 % of the particle total volume).....	101
Figure 41: Lien entre dureté et vitrosité des échantillons de type soft (Pina-D1a/Pinb-D1a) des lignées NILA et NILB. CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; RE : Rennes.....	109
Figure 42:Lien entre dureté et vitrosité des échantillons de type hard (Pina-D1a/Pinb-D1b) des lignées NILA et NILB. CF : Clermont-Ferrand ; EM : Estrées-Mons ; RE : Rennes.....	109
Figure 43:Lien entre la Dureté SKCS et la Vitrosité des échantillons des lignées NILA et NILB portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a.....	111
Figure 44: Lien entre la Dureté SKCS et la Vitrosité des échantillons des lignées NILA et portant la combinaison d'allèles Pina-D1a/Pinb-D1a. ....	111
Figure 45: Variabilité du pourcentage de farine produite et broyage B1 en fonction du type de dureté.....	113
Figure 46: Variabilité du pourcentage de grosses semoules produites au broyage B1 en fonction du type de dureté.....	113
Figure 47: Variabilité du pourcentage de grosses semoules totales produites au cours de la mouture en fonction du type de dureté.....	113
Figure 48: Variabilité du pourcentage de fines semoules totales produites au cours de la mouture en fonction du type de dureté.....	114
Figure 49: Variabilité du pourcentage de farine produite lors de la réduction des grosses semoules en fonction du type de dureté du grain.....	114
Figure 50: Variabilité des pourcentages de farine produites lors de la réduction des fines semoules en fonction du type de dureté.....	115
Figure 51: Variabilité du rendement en faine totale obtenu à la fin de la mouture en fonction du type de dureté.....	115
Figure 52: Variabilité du pourcentage de sons totaux obtenus à la fin de la mouture en fonction du type de dureté.....	116
Figure 53: Effet de la dureté NIRS sur l'aptitude à la réduction des fines semoules des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a. $r=0,648$ .....	119
Figure 54: Effet de la dureté NIRS sur le rendement en farine totale des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a. $r=0,639$ .....	120
Figure 55: Relations entre vitrosité et aptitude à la réduction des fines semoules des échantillons des NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b. $r=-0,772$ .....	122
Figure 56: Relations entre dureté SKCS et aptitude à la réduction de l'albumen des échantillons des NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b. $r= -0,831$ .....	123

Figure 57: Relation entre la dureté NIRS des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leur aptitude à réduire les grosses semoules en farine .....	124
Figure 58: Relation entre la vitrosité des échantillons hard des lignées NILA et NILB et leur aptitude à réduire les grosses semoules en farine.....	124
Figure 59: Relation entre la dureté NIRS des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leur aptitude à réduire les fines semoules en farine .....	125
Figure 60: Relation entre la dureté NIRS des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leur rendement en farine totale.....	126
Figure 61: Relation entre la dureté NIRS des échantillons hard des lignées NILA et NILB et leurs rendements en farine totale.....	126
Figure 62: Relation entre le PMG des échantillons hard des lignées NILA et NILB et leurs rendements en farine totale .....	127
Figure 63: Relation entre l'aptitude à la réduction des fines semoules des échantillons soft des lignées NILA et NILB et leurs rendements en farine totale.....	127
Figure 64 : Variation de la vitrosité des échantillons de type hard en fonction du lieu de culture.....	136
Figure 65: Variation de la teneur en protéines des échantillons en fonction du lieu de culture .....	137
Figure 66: Variation de l'aptitude à la réduction des grosses semoules du B1 en fonction du lieu de culture .....	138
Figure 67: Variation du taux d'amidon endommagés en fonction du lieu de culture des échantillons.....	138
Figure 68: Relation entre la Vitrosité et l'aptitude à la réduction des grosses semoules des 2 lignées et 4 cultivars sur les lieux Cappelle (CA), Clermont-Ferrand (CF) et Maule (MA). $R^2=0,640$ .....	140
Figure 69: Relation entre vitrosité et pourcentage relatif d'albumines. $R=-0,567$ .....	144
Figure 70: Relation entre vitrosité et pourcentage de fraction insoluble de protéines. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; MA : Maule. NIL1 : $y= 0,118x + 0,5$ et $r^2=0,922$ ; NIL2 : $y= 0,117x + 6,4$ et $r^2=0,648$ .....	145
Figure 71: Relation entre vitrosité et pourcentage de fraction insoluble de protéines. CA : Cappelle ; CF : Clermont-Ferrand ; MA : Maule : Apache : $y=0,057x + 10,0$ et $r^2=0,843$ ; Caphorn : $y=0,049x + 12,0$ et $r^2=0,964$ ; Soissons : $y=0,231x + 4,7$ et $r^2=0,867$ ; Orvantis : $y=0,065x + 5,7$ et $r^2=0,992$ .....	145
Figure 72: Variabilité des poids moléculaires des agrégats de protéines présents dans la fraction insoluble, en fonction de la variété. ....	146
Figure 73: Relation entre la dureté NIRS et l'aptitude à la réduction des grosses semoules des blés de type soft (portant les allèles PinaD1a/Pinb-D1a). $r=0,803$ .....	152
Figure 74: Relation entre vitrosité et Aptitude à la Réduction de l'Albumen des blés portant les allèles PinaD1a/Pinb-D1a. ....	152
Figure 75: Relation entre vitrosité et fraction insoluble de protéines des échantillons portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a.....	154
Figure 76: Relation entre dureté NIRS et pourcentage volumique des granules de type C. $r^2=0,683$ .....	155
Figure 77: Relation entre vitrosité des grains et taux d'amidon dans les gros sons. CA : Cappelle ; MA : Maule.....	162

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Phenotypes associés aux différentes mutations identifiées chez les puroindolines a et b .....	22
Tableau 2: Répartition des lignées quasi-isogéniques et variétés sur les lieux de culture et les années de récolte .....	37
Tableau 3: Statistique des caractéristiques des lignées NILA et NILB de la récolte 2007 .....	49
Tableau 4: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2007. Les valeurs sont les carrés moyens. * ; ** ; *** : significatif au niveau de probabilité respectif de 0,05 ; 0,01 ; 0,001 ; ns : non significatif .....	51
Tableau 5: Coefficients de corrélation (r) entre les caractéristiques (PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées) des grains des lignées NILA et NILB de la récolte 2007. *, **, *** : Les valeurs sont significativement différentes de 0 à aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%. .....	53
Tableau 6: Statistique des caractéristiques des lignées NILA, NILB, NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008 .....	55
Tableau 7: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des échantillons de NILA et NILB de la récoltes 2008. Les valeurs sont les carrés moyens. ns : non significatif.....	57
Tableau 8: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2 et NIL3 de la récolte 2008. Les valeurs sont les carrés moyens ; ns : non significatif.....	60
Tableau 9: Coefficients de corrélation (r) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2008: les valeurs sont les coefficients de corrélations r. * : Valeurs significativement différentes de 0 à un niveau de signification alpha=0,01. ns : non significatif ; ns : non significatif.....	63
Tableau 10: Coefficients de corrélation (r) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2008. Les valeurs sont les coefficients de corrélations r. * : Valeurs significativement différentes de 0 à un niveau de signification alpha=0,01. ns : non significatif .ns : non significatif.....	64
Tableau 11: Statistique des caractéristiques des lignées NILA, NILB, NIL1, NIL2, NIL3 ....	65
Tableau 12: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2009. Les valeurs sont les carrés moyens. ns : non significatif.....	68
Tableau 13: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2009. Les valeurs sont les moyennes de carrées. ns : non significatif.....	70
Tableau 14: Coefficients de corrélation (r) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB de la récolte 2009: les valeurs sont les coefficients de corrélations r. * ; ** ; *** : Valeurs significativement différentes ; ns : non significatif.....	72
Tableau 15: Coefficients de corrélation (r) entre les caractéristiques PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3 de la récolte 2009: les valeurs sont les coefficients de corrélations r. * ; ** ; *** : Valeurs significativement différentes de 0 aux niveaux de probabilités respectifs de 5% ; 1% ; 0,1% ; ns : non significatif .....	73
Tableau 16: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NILA et NILB sur 3 années de récolte et 3 lieux communs. Les valeurs sont des carrés moyens. * ; ** ; *** : significatif aux niveaux de probabilité respectifs de 5% ; 1%, 0,1%. Ns : non significatif.....	74



Tableau 17: Comparaison des caractéristiques des lignées NILA et NILB. Test de Tukey, Intervalle de confiance à 95%. A, b : groupe homogènes.....	74
Tableau 18: ANOVA des valeurs de PMG, PS, Dureté NIRS, Vitrosité, teneur en protéines des lignées NIL1, NIL2, NIL3. Les valeurs sont les carrés moyens. * ; ** ; *** : significatif aux niveaux de probabilité respectifs de 0,05 ; 0,01 ; 0,001. ns : non significatif.....	75
Tableau 19: Comparaison des caractéristiques des lignées NIL1, NIL2, NIL3. Test de Tukey, Intervalle de confiance à 95%. A, b,c : groupe homogènes.....	75
Tableau 20: Mean values and standard deviations (SD) of Thousand Kernel Weight, Test Weight, NIRS Hardness, SKCS hardness index, vitreousness and protein content from 3 pairs of near isogenic lines (NIL1 to NIL3) differing by Pinb-D1 allele and the French Soissons cultivar. Each distinct sample was grown in 4 locations, in 2008, and with two levels of nitrogen fertilization. Each line corresponds therefore to 8 distinct grain samples. Identical letters pointed out homogeneous groups provided by the statistical Tukey's test. ....	93
Tableau 21: Effect of the genotype, Pinb-D1 allele (b or d), growth location and nitrogen level on grain characteristics of the three pairs of near-isogenic lines. *, **, *** significant at the 0.05, 0.01, 0.001 probability levels, respectively, ns marked non significant effect. Values are mean squares. Only significant interactions were pointed out.....	94
Tableau 22: Effect of the genotype, Pinb-D1 allele (b or d), growth location and nitrogen level on grain milling characteristics of the three near-isogenic lines. Same legends as in Table 2.	97
Tableau 23: Relationships between grain characteristics and milling behaviour assessed with Pearson's correlations. Significant correlation with $p = 0.01$ were marked in bold character. Correlations are only presented once in the table. Reported values are r. ....	97
Tableau 24: Mean values and standard deviations (SD) of particle size ( $\mu\text{m}$ ) and percent volume of particles from farina (FAR1) before and after reduction obtained after milling of the different grain samples (NIL1 to NIL3) differing by Pinb-D1 allele and the French Soissons cultivar grown in 2 distinct locations leading to contrasted vitreousness (v). Identical letters pointed out homogeneous group provided by the statistical Tukey's test.....	103
Tableau 25: Coefficients de corrélation r entre les caractéristiques des grains au sein des échantillons portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a (Soft) et Pina-D1a/Pinb-D1b (Hard). ns : non significatif.....	110
Tableau 26 : Analyse de la variance des paramètres de mouture des échantillons des lignées NILA et NILB, allèles Pinb-D1a et Pinb-D1b, cultivées sur les lieux CF, EM, RE, azotes N et N+, récoltes 2007 et 2008. Les facteurs d'interactions non pas d'effets significatifs. ns : non significatif.....	112
Tableau 27: ANOVA des paramètres de mouture des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1a, cultivées sur les lieux CF, EM, RE pour les récoltes 2007 et 2008. Les autres facteurs d'interactions non pas d'effets significatifs. * ; ** ; *** : Significatifs aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%. Ns : non significatif. ns : non significatif.....	117
Tableau 28: Corrélations entre caractéristiques de grains et paramètres du comportement en mouture des échantillons des lignées NILA et NILB de type soft (Pina-D1a/Pinb-D1a) sur les lieux CF, EM, RE et récoltes 2007 et 2008). Les valeurs sont les coefficients de corrélations r. ns : non significatif.....	119
Tableau 29: ANOVA des paramètres de mouture des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b cultivés sur les 3 lieux communs pour les récoltes 2007 et 2008. Les autres facteurs d'interactions non pas d'effets significatifs. ns : non significatif.....	121
Tableau 30: Corrélations entre caractéristiques de grains et paramètres du comportement en mouture des échantillons des lignées NILA et NILB portant les allèles Pina-D1a/Pinb-D1b sur les lieux CF, EM, RE et 2 récoltes 2007 et 2008. *, **, ***: Valeurs significativement	

différentes de 0 aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%. ns : non significatif	122
Tableau 31: Valeurs de coefficients de corrélations r entre la masse volumique, la vitrosité et la teneur en protéines des grains	130
Tableau 32: Valeurs de dureté NIRS, de vitrosité, teneur en protéines, d'aptitude à la réduction des semoules en farine, et de taux d'amidons endommagés dans la farine issues de la réduction des semoules des échantillons analysés	134
Tableau 33: Effet du fond génétique (cultivar/lignée), des combinaisons d'allèles de puroindoline et du lieu de culture sur la dureté NIRS, la vitrosité, la teneur en protéines des semoules, sur l'aptitude à la réduction des semoules en farines et sur les taux d'amidon endommagés dans les farines des échantillons de NIL1 et NIL2 et 4 cultivars de type hard. Les valeurs sont les carrés moyens. * ; ** ; *** : Significatifs aux niveaux de probabilité respectifs de 5%, 1%	135
Tableau 34: Valeurs moyennes et écart-types de la dureté NIRS, de la vitrosité, et de la teneur en protéines des semoules, de l'aptitude à la réduction de l'albumen (ARA) et des taux d'amidons endommagés dans les farines des échantillons des 2 lignées et 4 cultivars. a, b, c : groupes homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%	136
Tableau 35: Valeurs de coefficients de corrélation r entre les caractéristiques des grains, l'aptitude à la réduction des grosses semoules en farine et les taux d'amidons endommagés dans les farines. * ; ** ; *** : valeurs significativement différents de 0 aux niveaux de probabilités respectifs de 5%, 1% et 0,1%	139
Tableau 36 : Effets de la lignée, de la combinaison d'allèle de Puroindolines et du lieu de culture sur la teneur en protéines totales et sur les teneurs en classes de protéines des semoules. * ; ** ; *** : Significatifs aux niveaux de probabilité respectifs de 5%, 1% et 0,1%	141
Tableau 37: Comparaison des valeurs moyennes de teneur en protéines et de pourcentages relatifs des classes de protéines. A, b, c : groupe homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%	142
Tableau 38: Comparaison des valeurs moyennes de teneur en protéines et de pourcentages relatifs des classes de protéines. A, b, c : groupe homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%	143
Tableau 39: Comparaison des pourcentages volumiques moyens des granules de types A, B et C des semoules. a, b : groupes homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%	147
Tableau 40: Comparaison des valeurs moyennes de teneur en puroindolines a, b et a+b des échantillons des cultivars et lignées étudiées. A, b, c, d : groupes homogènes. Test de Tukey, Intervalle de confiance de 95%	148
Tableau 41: Valeurs de vitrosité des drains, teneurs en protéines des grosses semoules, pourcentages relatifs d'albumines, de gliadines, de gluténines et de fraction insolubles des grosses semoules. FI : Fraction insolubles	153
Tableau 42: Valeurs de vitrosité des grains, ARA, pourcentages volumiques des granules de types A, B et C des échantillons analysés	154
Tableau 43: Coefficients de corrélation r entre les caractéristiques des grains et paramètres du comportement en mouture. n=35 ; 2 années (2007 et 2008) ; 7 cultivars (Astuce, Crouty, Innov, Paledor, Ressor, Robigus, SC 4013) ; 5 lieux (CF ; CH ; LO ; MA ; OR) ; Azote N et N+. * ; ** ; * : Significatifs aux niveau de probabilité respectifs de 0,05 ; 0,01 ; 0,001. ns : non significatif	159

