

**POSSIBILITÉS D'UN CONTROLE VARIÉTAL  
QUALITATIF ET QUANTITATIF  
DES LOTS DE BLÉ COMMERCIAUX**

par J. C. Autran et A. Bourdet

(Note présentée par M. J. Bustarret)

INTRODUCTION

Depuis quelques années et notamment depuis l'introduction des variétés à haut rendement qui remettent en cause les critères de qualité préconisés jusqu'alors, la meunerie et les industries utilisatrices de blé attachent un grand intérêt à la notion de variété. En dépit des fluctuations résultant des conditions agro-climatiques, le *critère variétal* est encore celui qui offre l'information la plus sûre quant à la valeur d'utilisation des blés et à leur destination.

Les difficultés résultant des possibilités de classement au niveau des organismes stockeurs font que, trop souvent, les blés destinés à la meunerie sont en réalité des mélanges de variétés d'aptitudes technologiques assez différentes, avec toutes les conséquences économiques qu'implique cet état de fait.

D'où l'intérêt que présenterait une méthode de contrôle qualitatif et quantitatif de la composition variétale des lots commerciaux stockés.

De présents travaux récemment publiés, soit en France (Autran, 1973; Autran et Bourdet, 1973, 1975), soit à l'étranger (Ellis, 1971; Wrigley et Shepherd, 1974), ont montré que la mise à profit de la spécificité des diagrammes électrophorétiques de la fraction gliadine du grain permettait de résoudre le problème de l'identification variétale dans le cas des lots variétalement purs.

La présente Note a précisément pour objet de proposer une méthode, fondée sur le même principe, mais qui devrait permettre un contrôle à la fois qualitatif et quantitatif des variétés présentes, *en mélange*, dans les lots de blés.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1. Préparation des matériels d'étude

Parmi les variétés admises au Catalogue Officiel, l'étude a concerné principalement celles qui sont les plus cultivées (Capitole, Champlein, Joss, Hardi, Rex, Étoile de Choisy, ...) ainsi que celles nouvellement inscrites (Maris Huntsman, Clément, Talent, ...).

L'ensemble de l'étude a porté sur des *mélanges de composition variétale connue, réalisés au laboratoire*.

Une première série d'échantillons était constituée de *mélanges de grains préalablement broyés*. Il s'agissait de mélanges binaires, pour chacun desquels les rapports pondéraux des 2 variétés composantes étaient respectivement 10/90, 20/80, 30/70, 50/50 et 80/20.

Dans une deuxième série, l'analyse a été réalisée *grain par grain*, sur des mélanges ternaires. A partir d'un échantillon global initial de 1 kg contenant les différentes variétés en proportions connues, on a prélevé d'abord un échantillon représentatif réduit, de 50 g, puis, par un système de microsonde permettant des prélèvements au hasard, un micro échantillon de 50 à 60 grains.

Les différents échantillons ainsi obtenus ont été traités par la glycol monochlorhydrine 25 % pour en extraire la fraction gliadine. Dans le cas des mélanges broyés, on a utilisé 3 ml de réactif pour 1 g de mouture et on a clarifié l'extrait par centrifugation. Dans le second cas, chaque grain, préalablement écrasé, a été extrait individuellement par 150 microlitres de réactif, sans centrifugation ultérieure.

Les extraits protéiques ainsi obtenus ont été alors fractionnés par électrophorèse.

## 2. Fractionnement électrophorétique des extraits

L'électrophorèse est réalisée selon des conditions déjà décrites (Autran et Bourdet, 1973), en gel d'amidon 10 % (tampon lactate d'Al.,  $\mu = 0,0045$ , urée 0,5 M, pH 3,2). La migration a lieu durant 4 h 45 à 8 volts/cm après un précourant de 2 heures et la coloration des bandes est effectuée par la nigrosine en milieu trichloracétique.

Chaque variété est caractérisée par son diagramme gliadine, interprété à l'aide de clés de détermination, selon le principe antérieurement décrit (Autran et Bourdet, 1975).

## RÉSULTATS

### 1. Analyse d'un mélange sur grains broyés

Le caractère variétal du diagramme des gliadines fait que l'analyse de chaque type de mélange constitue un cas d'espèce. On s'est donc penché à la fois sur le cas de mélanges de blés présentant des diagrammes très différents (exemples : *Étoile de Choisy + Florence-Aurore*, *Joss + Rex*, ...) et sur le cas, moins favorable, de blés possédant des diagrammes assez semblables (exemples : *Joss + Capitole*, *Champlein + Rex*, *Maris Huntsman + Hardi*, ...). La figure 1 illustre d'ailleurs chacun de ces deux cas en se limitant aux diagrammes de mélanges réalisés dans la proportion 30/70, comparativement à ceux des variétés pures.

Il ressort des observations effectuées que le diagramme électrophorétique du mélange broyé ne constitue pas, dans la plupart des cas, un moyen suffisamment sûr pour identifier les variétés composantes.

En effet, même dans les cas les plus favorables où l'on est en présence de 2 blés connus d'avance et présentant des diagrammes différents, il faut que le taux d'une variété atteigne 25 à 30 % pour qu'elle devienne détectable dans le diagramme de l'autre. Lorsqu'une variété contaminante est présente à moins de 25 %, le diagramme du mélange reste ainsi pratiquement celui de la variété prédominante.

*A fortiori*, lorsque les variétés constituantes du mélange ne sont pas connues d'avance, lorsqu'elles présentent des diagrammes assez voisins (cas de la majorité des blés d'hiver français) ou encore lorsqu'il s'agit d'un mélange à 3 ou 4 composantes, on risque le plus souvent de n'obtenir aucun



FIG. 1. — Diagrammes électrophorétiques des gliadines dans le cas de mélanges binaires, sur grains broyés.

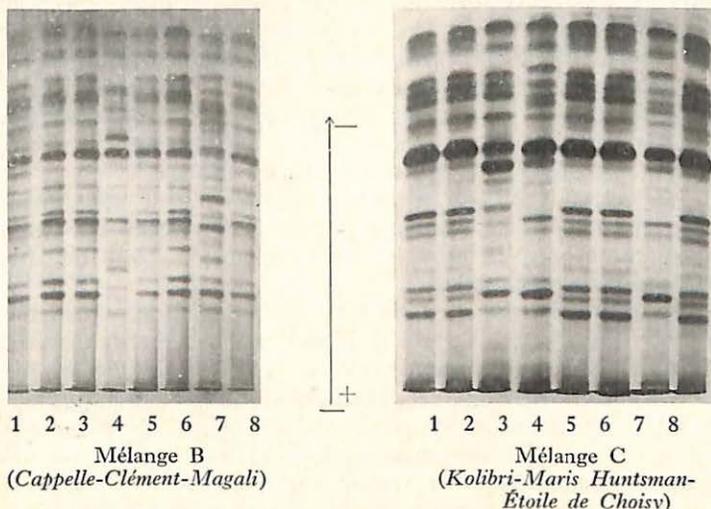


FIG. 2. — Exemples de diagrammes gliadines obtenus par analyse, grain par grain, d'un micro échantillon de 64 grains représentatif de mélanges de composition variétale définie.

Mélange B : grains *Cappelle* (n<sup>os</sup> 1, 2, 3, 5, 6 et 8); grain *Clément* (n<sup>o</sup> 7); grain *Magali* (n<sup>o</sup> 4).

Mélange C : grains *Kolibri* (n<sup>os</sup> 1, 2, 5, 6 et 8); grains *Maris Huntsman* (n<sup>os</sup> 4 et 7); grain *Étoile de Choisy* (n<sup>o</sup> 3).

TABLEAU I

RÉSULTATS DE L'ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE, GRAIN PAR GRAIN,  
DE 2 MÉLANGES DE COMPOSITION VARIÉTALE CONNUE,  
PRÉPARÉS AU LABORATOIRE

VARIÉTÉS COMPOSANTES	MÉLANGE A			MÉLANGE B		
	Capi- tole	César	Hardi	Cap- pelle	Clé- ment	Magali
Nbre de grains identifiés (sur un total de 64)	38	13	13	35	21	8
Intervalles de con- fiance à 95 % de probabilité. . .	49-70	11-31	11-31	44-65	22-45	6-24
Taux trouvés (%)	59,4	20,3	20,3	54,7	32,8	12,5
Taux réels (%) . .	60	25	15	50	30	20

renseignement sérieux quant aux proportions et même quant à la nature des variétés présentes.

D'où la nécessité de procéder à une étude grain par grain.

## 2. Analyse d'un mélange, grain par grain

Un grand avantage de la méthode électrophorétique est d'être applicable à un seul grain. En prélevant  $n$  grains d'un mélange et à condition que le micro échantillon isolé soit représentatif du lot initial, on obtient donc  $n$  diagrammes gliadines à partir desquels il est facile d'identifier les variétés présentes et d'établir les proportions relatives de chacune d'elles.

Il convenait toutefois de déterminer d'abord le nombre minimum  $n$  de grains sur lequel devait porter l'analyse pour que les résultats fournis soient les plus proches possibles de la réalité.

On s'est fixé, pour cela, une probabilité de 95 % de détecter au moins un grain de la variété la plus faiblement représentée dans le mélange. Le calcul, réalisable à partir du développement du binôme, montre alors que l'analyse de 50 à 60 grains est nécessaire pour qu'une variété présente à 5 ou 6 % dans le mélange ait une telle probabilité de figurer dans le micro échantillon.

Les tables de Snedecor et Cochran (1969) permettent en outre de préciser l'intervalle de confiance des résultats obtenus. Ainsi, par exemple, lorsque les résultats de l'analyse d'un mélange binaire font apparaître des taux respectifs de 20 % et 80 %, il y a lieu de préciser qu'à la probabilité de 95 % ,ces proportions pourront être comprises entre 10 % et 34 % pour la première variété et entre 66 % et 90 % pour la seconde.

Lorsqu'il s'agit d'un mélange plus complexe, les calculs sont formulés selon le même principe, les intervalles de confiance étant alors obtenus en considérant chaque variété comparativement au reste du mélange.

Compte tenu de ces observations, des analyses électrophorétiques ont été effectuées, grain par grain, à partir d'un micro échantillon d'une soixantaine de grains, considéré comme représentatif des mélanges de composition variétale connue, spécialement préparés dans ce but.

A titre d'exemple, le *tableau I* fournit les résultats expérimentaux obtenus à partir de 2 de ces mélanges, composés chacun de 3 variétés, par analyse d'un micro échantillon de 64 grains.

Pour chacun de ces mélanges, on observe que les proportions trouvées pour les variétés constituantes restent du même ordre que celles existant réellement dans l'échantillon initial. En outre, les pourcentages réels se situent non seulement toujours dans l'intervalle de confiance à 95 % mais souvent assez près de la valeur médiane de cet intervalle.

On a examiné, par ailleurs, l'évolution des pourcentages variétaux trouvés en fonction du nombre de grains analysés. Pour 20 à 30 grains, par exemple, les résultats traduisent bien la tendance des pourcentages réels, mais accusent naturellement de plus grandes amplitudes, notamment dans le cas des variétés faiblement représentées. Cela souligne donc que l'analyse d'une population trop limitée de grains permet sans doute d'identifier les variétés présentes dans le mélange mais ne permet pas d'en estimer les proportions avec une précision suffisante.

La *figure 2* donne une idée plus concrète des diagrammes obtenus par analyse grain par grain de variétés en mélange ternaire. Pour des raisons d'encombrement, on n'y présente que 8 des 64 diagrammes effectivement obtenus pour chaque mélange.

Si l'interprétation se limitait à ces 8 grains, le calcul

donnerait pour les variétés *Cappelle-Clément-Magali* du mélange B, les rapports 75/12,5/12,5 alors qu'ils sont réellement de 50/30/20. De même pour les variétés *Kolibri-Maris Huntsman-Étoile de Choisy*, (mélange C), les proportions calculées seraient de 62,5/25/12,5 alors qu'elles sont en réalité de 75/15/10. En fait, l'analyse d'un micro échantillon de 64 grains a donné, par exemple pour le mélange B (voir *tableau I*), les rapports 54,7/23,8/12,5, ce qui montre qu'une population de l'ordre de 50 à 60 grains est à la fois nécessaire et suffisante pour que le résultat de l'analyse soit susceptible de rendre une image significative et suffisamment proche de la réalité.

### CONCLUSIONS

Si l'électrophorèse des gliadines à partir de grains broyés permet l'identification de la plupart des blés français lorsque l'échantillon est constitué d'une variété pure, il n'en est pas de même lorsqu'il s'agit d'un mélange variétal plus ou moins complexe.

En effet, l'additivité des bandes électrophorétiques de 2 ou plusieurs diagrammes variétaux, déjà complexes par eux-mêmes, rend le diagramme d'un mélange le plus souvent ininterprétable. Même pour des mélanges simples de 2 blés dont on connaît préalablement la nature, il faut que la proportion de la variété la moins représentée atteigne 25 ou 30 % pour qu'elle ait des chances d'être détectée sur le diagramme du mélange.

Seule l'analyse électrophorétique grain par grain semble donc apporter une solution au problème posé du fait qu'elle permet de reconnaître les variétés présentes en mélange et d'en déterminer approximativement les proportions relatives.

L'examen, dans ces conditions, d'un micro échantillon d'au moins 50 grains prélevé au hasard dans un mélange de composition variétale préalablement définie montre que l'écart entre les proportions expérimentales et les proportions réelles reste dans des limites suffisamment acceptables.

L'application de cette technique d'analyse grain par grain à des lots commerciaux de composition inconnue pose évidemment le problème de la représentativité du micro échantillon. Ce problème devrait cependant être résolu en procédant à une série de réductions du sous-échantillon (lui-même prélevé significativement à partir du lot initial), au moyen

d'appareils échantillonneurs ou diviseurs à rifles. C'est d'ailleurs dans ce sens que la présente étude est poursuivie.

L'application de la méthode décrite au contrôle variétal qualitatif et quantitatif des lots de blé stockés permettrait notamment à l'industrie meunière de s'approvisionner en matières premières de caractéristiques variétales (et donc technologiques) définies. Cela résoudrait les difficultés que rencontre actuellement ce secteur de l'utilisation des blés du fait de l'introduction en culture de variétés à haute productivité mais inaptes à la panification et cela permettrait, plus généralement, d'orienter rationnellement les productions de blé vers des destinations correspondant à leur valeur d'utilisation réelle.

*Laboratoire de Recherches sur la Qualité des  
Blés. I.N.R.A., 16, rue Nicolas-Fortin,  
75013 PARIS.*

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUTRAN (J.-C.). — L'identification des variétés de blés *Bull. Anc. Élèves École fr. Meunerie*, 1973, 256, 163-169.
- AUTRAN (J.-C.), BOURDET (A.). — Nouvelles données permettant l'exploitation de l'hétérogénéité électrophorétique des gliadines du grain de blé, en vue d'une identification variétale. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1973, 277, 2081-2084. Sér. D,
- AUTRAN (J.-C.), BOURDET (A.). — L'identification des variétés de blé établissement d'un tableau général de détermination fondé sur le diagramme électrophorétique des gliadines du grain. *Ann. Amélior. Plantes*, 1975, 4, (sous-presse).
- ELLIS (R.-P.). — The identification of wheat varieties by the electrophoresis of grain proteins. *J. nat. Inst. agric. Bot.*, 1971, 12, 223-235,
- SNEDECOR (G.-W.), COCHRAN (W.-G.). — *Statistical Methods*. Ed. Fifth. The Iowa University Press, Iowa, U.S.A., 1969, 210 p.
- WRIGLEY (C.-W.), SHEPHERD (K.-W.). — Identification of Australian wheat cultivars by laboratory procedures : examination of pure samples of grain. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 1974, 14, 796-804.

**M. Hémin.** — Monsieur le Président, vous savez mieux que personne que la teneur en protéine des grains d'une même variété peut changer sous l'influence de la fertilisation et du climat.

Ces variations sont-elles susceptibles d'entraîner des modifications importantes des diagrammes que vous venez de nous présenter ?

**M. J. Bustarret.** — A ma connaissance, l'étude de MM. Bourdet et Autran a porté sur des grains produits dans différentes conditions de culture et il ne semble pas qu'il y ait de variations notables...