

**INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE**

-----

**DOSSIER DE CANDIDATURE**

**POUR LA NOMINATION DANS LE CORPS DES**

**DIRECTEURS DE RECHERCHE DE 1° CLASSE**

**AU TITRE DE L'ANNÉE 1989**

-----

**CURRICULUM VITAE**

**MÉMOIRE SUR LES TRAVAUX SCIENTIFIQUES**

**LISTE DES PUBLICATIONS**

-----

**Jean-Claude AUTRAN**

-----

**Département Technologie des Glucides et des Protéines**

**Laboratoire de Technologie des Céréales**

**I.N.R.A.**

**2 Place Viala**

**34060 MONTPELLIER CEDEX 01**

<b>CURRICULUM VITAE</b>
-------------------------

Jean-Claude AUTRAN, né le 24 Mai 1944 à Méounes-les-Montrieux, Var  
Marié, père de deux enfants  
Lotissement Les Aiguelongues. 124 Rue Laurent Chabry  
34090 MONTPELLIER  
Tél. 67 54 49 69

*Situation actuelle :*

Directeur de Recherches INRA 2° Classe, 6° échelon (groupe A2), Responsable de l'Unité de Recherches "Biochimie et Génétique de la Qualité des Céréales" dans le cadre du Laboratoire de Technologie des Céréales (Directeur: P. FEILLET), Centre de Recherches de Montpellier, 2 Place Viala, 34060 MONTPELLIER CEDEX 01.

*Diplômes et titres universitaires :*

1962 : Baccalauréat, Série Mathématiques, mention AB.

1965 : Équivalence M.P.C., par admissibilité à l'École Normale Supérieure de la rue d'Ulm (groupe C) et Équivalence M.G.P., par admission à l'École de Brasserie, de Malterie et de Biochimie appliquée de Nancy.

1968 : Diplôme d'Ingénieur des Industries Agricoles et Alimentaires (E.N.S.I.A., Massy), promotion 1965-1968, option B, rang de sortie : 7°.

1969 : D.E.A. de Physiologie Végétale Appliquée à l'Université de PARIS VI (Pr. R. ULRICH), mention AB.

1973 : Doctorat d'État Ès-Sciences Naturelles à l'Université de PARIS VI.

1979 : Habilitation à Diriger des Recherches à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc.

*Connaissances en langues étrangères :*

- Anglais : traduction, conversation.
- Italien : traduction.

*Fonctions successives à l'INRA :*

1/1/1968 : Nommé Attaché Contractuel Scientifique lors de la 3<sup>o</sup> année d'études à l'ENSIA.

1/9/1968 - 1/2/1969 : Affecté à la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales de Massy (Dir. : A. GUILBOT et L. PETIT).

1/2/1969 - 1/9/1977 : Affecté au Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés, 16 rue Nicolas-Fortin, 75013 PARIS (Dir. : A. BOURDET).

1/12/1969 : Nommé Assistant de Recherches INRA.

1/7/1973 : Nommé Chargé de Recherches INRA.

1/1/1976 : Inscrit sur la Liste d'Aptitude de la Recherche Agronomique.

1/9/1977 : Affecté au Laboratoire de Technologie des Blés durs et du Riz, Centre de Recherche de MONTPELLIER (Dir. : P. FEILLET).

1/8/1979 - 1/1/1986 : Directeur du Laboratoire de Technologie des Blés durs et du Riz (devenu "Laboratoire de Technologie des Céréales" le 1/9/1979), Centre de Recherches de MONTPELLIER.

1/1/1980 : Nommé Maître de Recherches (Directeur de Recherches 2<sup>o</sup> Classe) INRA.

1/1/1986 : Chargé de l'animation scientifique de l'unité de Recherches: Biochimie et Biologie Moléculaire dans le cadre du Laboratoire de Technologie des Céréales (Dir. : P. FEILLET).

1/1/1989 : Chargé de l'animation scientifique de l'unité de Recherches: Biochimie et Génétique de la Qualité des Céréales dans le cadre du Laboratoire de Technologie des Céréales (Dir. : P. JOUDRIER).

*Stage à l'étranger :*

09/1976 - 08/1977: Année sabbatique au Western Regional Research Laboratory (Food Proteins Unit, Leader : Dr. Donald D. KASARDA), ARS-USDA, 800 Buchanan Street, 94710 BERKELEY, California, U.S.A.

*Enseignements :*

- Biochimie Générale à l'École Nationale Supérieure de la Meunerie et des Industries Céréalières (ENSMIC), 16 rue Nicolas Fortin 75013 PARIS, de 1970 à 1975.

- Production et Biochimie des Protéines Végétales, au DEA de Sciences des Aliments (Pr. J.-C. CHEFTEL) (depuis 1979).
- Électrophorèse et applications, au DEA de Sciences des Aliments, depuis 1985.
- Céréales et Agro-Industrie, dans le cadre de la 3<sup>e</sup> Année de l'École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier (ENSAM), depuis 1989.
- Enseignements divers à l'Institut de Chimie et Physique Industrielles de Lyon, au Service de la Répression des Fraudes de Montpellier, au Centre de Perfectionnement des Cadres des Industries Agricoles et Alimentaires (CPCIA).

*Autres Responsabilités:*

- Responsable du Thème de Recherche C12 "Bases biochimiques et moléculaires de la qualité des céréales" dans le cadre du Département Technologie des Glucides et des Protéines (depuis 1982).
- Animateur du Groupe "Biochimie-Génétique des Blés" de l'INRA (1984-1988).
- Président du groupe d'experts "Électrophorèse" du Bureau Interprofessionnel d'Études Analytiques (1977-1986).
- Coordinateur du programme CEE (BCR) : "Détection et dosage du blé tendre dans les pâtes alimentaires ayant subi des traitements thermiques à haute température" (1989-1990).
- Animateur du programme AGROBIO INRA (1989-1990). Section "Adaptation des productions agricoles à leur utilisation agro-alimentaire".
- Membre de la Section du Comité Technique Permanent pour la Sélection des Plantes Cultivées (CTPS), ainsi que des Commissions CTPS Blé tendre et Blé dur.
- Membre de divers groupes de travail INRA : "Biochimie et biophysique des protéines", "Informatisation de l'électrophorèse monodimensionnelle".
- Membre de plusieurs groupes de travail de l'Institut de Recherches Agro-Alimentaires des Céréales (IRTAC) : Rhéologie des pâtes, Gluten, Orge.
- Responsable INRA de la collaboration avec la Grande Bretagne (AFRC) et l'Académie des Sciences de l'URSS sur le thème "Biochimie et Génétique des Protéines du Blé".
- Responsable du groupe de travail "Identification Variétale" de l'Association Internationale de Chimie Céréalière (depuis 1989).
- Membre de l'American Association of Cereal Chemists (AACC) depuis 1977.

- Membre de l'American Chemical Society (ACS) depuis 1986.
- Éditeur-associé de la revue Cereal Chemistry.
- Membre du Comité de rédaction des revues : Sciences des Aliments et Journal of Genetics and Breeding.
- Secrétaire-adjoint de la Société Française d'Électrophorèse (et membre des Commissions "Enseignement" et "Systématique") depuis 1989.
- Membre de la Société des Sciences Naturelles et d'Archéologie de Toulon et du Var depuis 1958.

## MÉMOIRE SUR LES TRAVAUX SCIENTIFIQUES

### TABLE DES MATIÈRES

#### I - ÉTUDE DES DÉSOXYRIBONUCLÉOPROTÉINES ET DES HISTONES DU GRAIN DE BLÉ

- 1.1 - Étude physico-chimique des DNP et des histones du germe de blé.
- 1.2 - Les composés nucléiques des différentes régions du grain de blé.
- 1.3 - Les histones au cours du développement et de la germination du grain.
- 1.4 - Aspects génétiques de la constitution des histones du blé.

#### II - IDENTIFICATION DES VARIÉTÉS DE CÉRÉALES AU MOYEN DE TECHNIQUES ÉLECTROPHORÉTIQUES

- 2.1 - Interprétation des électrophorégrammes de gliadines : signification des différences variétales observées
- 2.2 - Indices de similarité des diagrammes et clés d'identification variétales
- 2.3 - Identification variétale dans les mélanges commerciaux de grains.
- 2.4 - Développement de la technique d'identification variétale dans l'interprofession céréalière.
- 2.5 - Évolution des techniques d'électrophorèse pour l'identification variétale.
- 2.6 - Automatisation de l'identification variétale par informatisation de la lecture des électrophorégrammes

#### III - BIOCHIMIE-GÉNÉTIQUE DES BLÉS

- 3.1 - Identification de marqueurs chromosomiques et génomiques. Relations homéologiques entre les chromosomes des blés et des espèces voisines.
- 3.2 - Déterminisme génétique des gliadines et des gluténines de blé dur.
- 3.3 - Phylogénie des blés.

#### IV - RECHERCHE ET UTILISATION DE MARQUEURS BIOCHIMIQUES DE LA QUALITÉ TECHNOLOGIQUE EN SÉLECTION VARIÉTALE

- 4.1 - Composition protéique et qualité boulangère des blés tendres.
- 4.2 - Intérêt de la technique d'HPLC pour la prédiction de la qualité boulangère.
- 4.3 - Qualité technologique des blés durs.

## V - PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES ET FONCTIONNELLES DES PROTÉINES

5.1 - Les  $\gamma$ -gliadines et les LMW-gluténines du blé dur.

5.2 - Propriétés agrégatives des hordéines de l'orge.

## VI - PROJETS DE DÉVELOPPEMENT DE NOTRE UNITÉ DE RECHERCHES

6.1 - Analyse du contexte économique.

6.2 - Stratégie de notre Unité de Recherches.

6.3 - Quelle recherche de base ?

6.4 - Principaux axes de recherche en cours de développement :

- a) Les complexes protéiques responsables des différences génétiques de qualité des blés.
- b) Les HMW-gluténines des blés tendres.
- c) Les LMW-gluténines des blés durs.
- d) Liaison étroite avec les biologistes moléculaires.
- e) Développement de microtests biochimiques en sélection variétale.
- f) Nouvelles ressources génétiques
- g) Problèmes d'expression de la qualité.
- h) Étude de la qualité des semences d'orge.
- i) Détection et détermination du blé tendre dans les pâtes alimentaires séchées à haute ou à très haute température

NB. Les numéros notés entre parenthèses dans le texte du mémoire se rapportent aux titres cités dans la liste des publications (Annexe I).

### **Abréviations utilisées dans le texte :**

ACP : Analyse en composantes principales

AFD : Analyse factorielle discriminante

CCD : Charge-coupled device

DNP : Désoxyribonucléoprotéines

DSG : Durum wheat cystein-rich glutenin

FPLC : Fast-protein liquid chromatography

HMWG : High molecular weight glutenins

LMWG : Low molecular weight glutenins

RP-HPLC : Chromatographie liquide à haute performance en phase inversée

SE-HPLC : Chromatographie liquide à haute performance en gel filtration

A-PAGE : Électrophorèse en gel de polyacrylamide en milieu acide

SDS-PAGE : Électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de dodécyl sulfate de sodium

BIPEA : Bureau Interprofessionnel d'Études Analytiques

CTPS : Comité Technique Permanent pour la Sélection des plantes cultivées

GEVES : Groupe d'Étude des Variétés et des Semences

GMP : Grands Moulins de Paris

IRTAC : Institut de Recherches Agro-Alimentaires des Céréales

TEPRAL : Centre de Recherches Technologie des Produits Alimentaires (Groupe BSN)



## ORIENTATION GÉNÉRALE DES RECHERCHES

Depuis le début de ma carrière à l'INRA, mon activité de recherche a été centrée sur les protéines des céréales, leur composition et leurs propriétés, avec différents domaines d'application touchant successivement à la génétique et la sélection, à l'identification des variétés et à la recherche des bases biochimiques et moléculaires de la qualité technologique.

De 1968 à 1972, au Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés de Paris, le premier sujet traité, objet de ma Thèse de Doctorat d'État, a concerné les désoxyribonucléoprotéines et les histones du grain de blé. Ce thème a permis de développer ma connaissance fondamentale des protéines et de m'initier à leurs techniques d'étude.

Dans une seconde phase (1973-1976), mettant à profit la formation de nature à la fois biochimique et génétique reçue, je me suis orienté vers différents problèmes essentiellement appliqués à l'amélioration de la qualité technologique des blés tendres et à l'identification variétale en faisant intervenir les gliadines et les gluténines, protéines de réserve du grain.

Une année sabbatique dans une équipe américaine (1976-1977) m'a permis d'approfondir certains aspects touchant à la biochimie-génétique des blés, en particulier des problèmes de phylogénie, grâce à l'étude des séquences d'acides aminés N-terminales de différentes fractions gliadines.

En 1977, j'ai été affecté au Laboratoire de Technologie des Blés durs et du Riz de Montpellier et, de 1977 à 1979, je me suis consacré d'une part, au développement des techniques d'identification variétale par électrophorèse et, d'autre part, à l'étude des relations applicables en sélection entre la composition des protéines et certains paramètres de la qualité technologique des blés tels que les propriétés viscoélastiques du gluten.

En 1979, j'ai été chargé des fonctions de Directeur du Laboratoire (Laboratoire de Technologie des Céréales). Tout en assurant la direction administrative, j'ai poursuivi certaines de mes précédentes recherches sur l'amélioration des techniques d'identification des variétés de céréales, ainsi que sur la mise au point et le développement d'outils biochimiques en sélection qualitative des blés. Je me suis cependant surtout consacré, dans le cadre des axes définis au sein du Département Technologie des Glucides et des Protéines, à l'animation scientifique du Laboratoire, en essayant de faire progresser l'approche biochimique et, ultérieurement, l'approche moléculaire des problèmes de qualité technologique des blés tendres et des blés durs, tout en assurant le maintien des activités touchant à la technologie du blé dur et des pâtes alimentaires et des relations avec les professionnels de la sélection et les industriels de la filière blé dur.

Depuis 1986, j'ai repris une activité de recherche à plein temps et j'assure aujourd'hui simplement l'animation scientifique de l'unité "Biochimie et Génétique de la Qualité des Céréales" (3 scientifiques, 1 assistant-ingénieur, 3 techniciens, 5 étudiants) dans le cadre du Laboratoire de Technologie des Céréales, dirigé par P. FEILLET.

Pour des raisons de clarté, l'exposé des principaux résultats qui va suivre distingue les grands thèmes abordés au cours de ma carrière, sans nécessairement tenir compte de leur chronologie d'obtention. Il est complété par les perspectives de développement de l'Unité de Recherches que j'anime actuellement.

## I - ÉTUDE DES DÉSOXYRIBONUCLÉOPROTÉINES ET DES HISTONES DU GRAIN DE BLÉ

Les recherches initialement entreprises dans le cadre de mes mémoires universitaires (DEA de Physiologie Végétale Appliquée (127) et Thèse de Doctorat d'Etat Es-Sciences Naturelles (128)) ont concerné les acides nucléiques du blé et les protéines basiques (histones) apparemment associées à l'ADN sous forme de désoxyribonucléoprotéines (DNP). Le rôle biochimique et génétique fondamental de ces constituants (support des caractères héréditaires et contrôle de leur transmission) était déjà bien admis à l'époque et différents travaux commençaient à attribuer une certaine spécificité biologique et génétique aux histones. Cette étude, qui était toutefois fondée sur une approche biochimique simple - bien antérieure à l'apparition des outils de la biologie moléculaire - n'a pas débouché sur des résultats immédiatement utilisables à l'amélioration des variétés de céréales. En revanche, le travail est apparu constituer une base intéressante pour des recherches de nature plutôt physiologique et nous a permis, par ailleurs, de développer notre formation scientifique dans le domaine de la biochimie-génétique des blés.

### 1.1 - Étude physico-chimique des DNP et des histones du germe de blé.

Une technique de purification fondée sur les propriétés de solubilité des DNP en milieu salin concentré et d'insolubilité aux concentrations isotoniques (NaCl 0,14 M), a permis d'isoler des DNP de germe de blé avec un rendement de 80 %. De par leur composition (40 % ADN, 1,5 % ARN, 46 % histone, 12 % protéine acide résiduelle), celles-ci s'apparentent à leurs homologues animales connues (7). Leur intégrité n'apparaît pas modifiée par rapport aux DNP isolées directement des préparations de noyaux cellulaires de germe de blé (128).

L'étude des histones isolées de ces DNP a permis de mettre en évidence plusieurs analogies (solubilité, composition chimique, spectres UV, acides aminés) avec les histones de thymus de veau ou de plantule de pois (62). La purification des principaux composants électrophorétiques a permis de dégager une certaine **originalité de l'histone de germe de blé** (absence apparente de fraction F3, atténuation du groupe F1) vis à vis des autres histones végétales connues, mais aussi d'apparenter certaines fractions de l'histone de germe de blé à des types classiques (F2a1, F2a2, F2b) définis à l'origine chez le thymus de veau (6). On a particulièrement noté la grande similarité entre les fractions les plus riches en arginine (F2a1) et leurs homologues végétales et même animales, ce qui a permis de souligner **l'exceptionnelle stabilité de ces fractions et le comportement peu évolutif de l'histone elle-même.**

### 1.2 - Les composés nucléiques des différentes régions du grain de blé.

Le grain de blé mature ne contient que 0,20 à 0,25 % d'acides nucléiques, dont 40 % d'ADN. Ces composés se répartissent approximativement à raison de 1/3 dans l'albumen (la farine), 1/3 dans les enveloppes (les sons) et 1/3 dans le germe (3, 60). Ce dernier, qui ne représente que 2 à 3 % du poids du grain, apparaît donc particulièrement riche en ARN et en ADN (respectivement 2,3 et 1,0 %) (127). En raison de la dégénérescence des tissus de réserve,

la purification des DNP à partir du grain entier est plus difficile qu'à partir du germe et ces DNP sont partiellement dénaturées. Les préparations d'histones obtenues à partir de l'albumen du grain apparaissent qualitativement identiques à celles du germe, mais demeurent généralement contaminées par des globulines du suc nucléaire.

Certaines relations entre les histones du blé et les 4 classes de protéines définies par OSBORNE ont été précisées : les préparations de globulines contiennent, chez le germe, jusqu'à 17 % d'histones, mais en sont dépourvues chez la farine; d'autre part, les histones sont totalement absentes des préparations d'albumines et de gliadines (1).

### 1.3 - Les histones au cours du développement et de la germination du grain.

Les observations rassemblées sur le plan biochimique ont permis d'aborder une étude essentiellement dynamique des histones, visant à préciser certains aspects de leur fonction globale et du rôle particulier de leurs composants.

L'évolution de la constitution des histones au cours de la maturation du grain montre ainsi une grande stabilité des fractions du type F2a et F2b (indiquant un rôle essentiellement structural) et une apparition tardive du groupe F1 (vraisemblablement impliqué dans la répression de certains gènes lors du ralentissement des synthèses). Inversement, au cours de la germination du grain, ou de l'embryon isolé, on note une rapide diminution du nombre de constituants histones (phénomène probablement lié à l'initiation de nouvelles synthèses), notamment ceux du type F1, d'ailleurs pratiquement absents des tissus de la jeune plantule (7)(118).

### 1.4 - Aspects génétiques de la constitution des histones du blé.

La comparaison des histones isolées de différents genres, espèces ou variétés de *Triticum*, *Aegilops*, *Hordeum* et *Secale*, montre une grande similarité de constitution électrophorétique (2). Les fractions riches en lysine (F1) apparaissent sensiblement plus spécifiques que les fractions riches en arginine (F2a), confirmant les conclusions présentées sur divers organismes animaux et végétaux (2)(7).

Cette remarquable conservation au cours de la différenciation des espèces est vraisemblablement à rapprocher des fonctions très particulières des histones, fonctions qui exigent une **absence de modification évolutive** du fait de la conservation, durant des millions d'années, de la structure de l'ADN.

## II - IDENTIFICATION DES VARIETES DE CEREALES AU MOYEN DE TECHNIQUES ELECTROPHORETIQUES

Les travaux poursuivis au Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés de Paris visaient à résoudre, en s'appuyant à la fois sur des études biochimiques et génétiques et sur des travaux à caractère technologique, les problèmes de qualité se posant aux stades de la sélection variétale, de la production des semences et du classement des récoltes, en vue de mieux satisfaire aux besoins des secteurs de la transformation et de l'utilisation des blés.

Depuis le début des années 70, avec l'apparition sur le marché français et européen de variétés de blé à haute productivité mais de qualité technologique incompatible avec les besoins de la meunerie (Maris Huntsman, Clément) ou de la semoulerie (Durtal, Tomclair) - qui sont venues remettre en cause les critères de classement utilisés jusqu'alors - les industriels ont manifesté un grand intérêt pour l'aspect variétal de leur matière première. Bien que n'étant pas le seul facteur influençant la qualité des blés, **la variété** est restée, depuis lors, le meilleur critère pour garantir un niveau donné de qualité technologique et pour permettre une différenciation entre les blés panifiables et les blés fourragers.

L'idée d'un commerce des grains fondé sur la déclaration de la variété ayant été progressivement acceptée et différents niveaux de prix étant entrés en usage, il devenait nécessaire de disposer de tests indiscutables d'identification variétale, particulièrement sur des échantillons renfermant plusieurs variétés en mélange.

Après avoir confirmé la nette insuffisance des tests antérieurement utilisés (critères botaniques, physiologiques, morphologiques, chimiques,...) (5)(9), nous avons cherché à développer une nouvelle méthode à la fois très spécifique et donnant des résultats indépendants des facteurs agro-climatiques. Différents travaux avaient signalé, dès le début des années 60, l'intérêt possible des diagrammes électrophorétiques de la fraction gliadine du grain. Toutefois, en raison de la complexité de ces diagrammes et de la difficulté à les reproduire, ces travaux s'étaient limités à constater les différences variétales, sans parvenir à les utiliser véritablement pour identifier les variétés.

Notre intervention dans ce secteur a successivement concerné :

- 1) l'interprétation des électrophorogrammes et la construction de clés de détermination des variétés (1972-1975),
- 2) l'amélioration des techniques d'électrophorèse et la mise au point de nouveaux supports (1973-1981),
- 3) le développement des techniques auprès des laboratoires professionnels, la formation du personnel (1975-1976) et l'animation du groupe d'experts "Électrophorèse" du BIPEA (1977-1985).

Dans la toute dernière phase (1986-1987), nous avons réduit notre activité de développement et de formation au profit de nouvelles recherches sur problème de l'informatisation de la lecture et du traitement des données de l'électrophorèse dans le but d'automatiser totalement le procédé, notamment dans le cas de mélanges totalement inconnus tels que des farines industrielles.

## 2.1 - Interprétation des électrophorégrammes de gliadines : signification des différences variétales observées

Quel que soit le support utilisé (gel d'amidon, gel de polyacrylamide), chaque variété possède un diagramme électrophorétique des gliadines caractéristique (par la mobilité relative des bandes et leur concentration) et totalement indépendant des facteurs d'environnement de la plante (5)(11). Ce remarquable polymorphisme intervariétal est à la base de tout le système chimiotaxonomique qui a permis l'identification variétale (56)(95)(99).

Dans le but de comparer objectivement ces diagrammes variétaux, on a tout d'abord réalisé un inventaire des composants rencontrés dans une collection mondiale de plus de 400 géotypes. Comme une technique d'électrophorèse ne permet cependant pas, à elle seule, de démontrer que des bandes de mobilité apparemment identique correspondent bien à une même espèce moléculaire, il est extrêmement difficile d'établir un répertoire exhaustif des composants présents dans un grand nombre de variétés. L'idée retenue - dans l'optique appliquée qui était la nôtre - a donc été de se fonder sur les seuls composants repérables sans ambiguïté et de considérer de fait comme identiques ceux dont les valeurs de mobilité n'apparaissent pas significativement différenciables. 50 composants seulement, répartis en  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - et  $\omega$ -gliadines ont été retenus et chaque variété a pu être caractérisée par un ensemble limité et clairement défini de composants de ce répertoire (8)(9).

L'utilisation des concentrations relatives (ramenées à une échelle de 5 niveaux : 0, tr., +, ++ et +++, ou encore: 1, 2, 3, 4 et 5) a finalement permis de schématiser les diagrammes, d'établir des diagrammes-types variétaux normalisés, de s'assurer de la signification réelle des données expérimentales obtenues et de démontrer la validité d'une interprétation fondée sur le système électrophorétique (8)(46)(63).

Ces diagrammes-types, véritables empreintes digitales des variétés, ont d'ailleurs été introduits, depuis cette époque dans les fiches descriptives des variétés établies par le GEVES.

## 2.2 - Indices de similarité des diagrammes et clés d'identification variétales.

A partir d'un schéma normalisé, l'appréciation rapide et objective du degré de similarité des diagrammes est devenue possible. On a pu quantifier l'analogie (ou la dissemblance) en calculant un indice (absolu ou relatif) de similarité (ou de dissimilarité) de tous les diagrammes pris deux à deux. Comme des indices de similarité élevés correspondent généralement à des

variétés génétiquement apparentées, ce système a été proposé pour estimer la "distance génétique" des variétés ou des géniteurs utilisés dans les programmes d'hybridation (9).

Enfin, sur la base des différences significatives détectées, on a conçu un système de **clés de détermination** des variétés françaises (8)(9) et européennes (47)(58) qui permet de retrouver sans ambiguïté le nom d'une variété inconnue à partir de son électrophorogramme. Ces tableaux chimiotaxonomiques, construits à l'image de flores botaniques, utilisent les données qualitatives (présence/absence) ou quantitatives (présence avec : +, ++ ou +++) des diagrammes. Les clés de détermination ont été très utilisées dans l'interprofession céréalière depuis 1976 et ont été régulièrement mises à jour et publiées dans le cadre du BIPEA sous notre responsabilité (51)(52).

A l'origine (1973 à 1977) et partir des électrophorogrammes de gliadines en gel d'amidon utilisés à l'époque, les variétés de blés tendres et de blés durs cultivées en France possédaient une assez grande diversité de diagrammes et environ 95 % pouvaient être identifiées individuellement dans les clés de détermination. Seuls quelques blés génétiquement très apparentés (lignées-sœurs) ne pouvaient être reconnus individuellement. Ce pourcentage s'est abaissé à 70 % par la suite en raison de l'inscription de nombreux blés d'hiver présentant entre eux des parentés génétiques élevées, ce qui a amené à rechercher des supports d'électrophorèse plus résolutifs ainsi que des protéines présentant un polymorphisme intervariétal complémentaire de celui des gliadines (66)(71)(cf par. 2.5 ci-dessous).

### 2.3 - Identification variétale dans les mélanges commerciaux de grains.

En présence d'un lot de variété pure, le contrôle est réalisé simplement sur une mouture du lot de grains. Les principaux composants du diagramme sont repérés grâce à un témoin et la lecture de la clé de détermination permet alors, soit la confirmation d'une variété présumée, soit l'identification exacte d'une variété inconnue.

En cas de mélange de plusieurs variétés, le seul moyen connu pour déterminer la composition variétale qualitative et quantitative est l'analyse grain par grain d'un micro-échantillon représentatif. Le test est généralement pratiqué sur 50 grains. On identifie les différentes variétés en présence à partir des diagrammes de chacun des grains et on établit leur pourcentage relatif. La composition variétale est alors calculée dans la limite d'un intervalle de confiance donné par les tables statistiques et comparée, selon le type de transaction, aux différentes normes de tolérances exprimées dans les documents contractuels (10)(48)(49)(50).

### 2.4 - Développement de la technique d'identification variétale dans l'interprofession céréalière

Le principe de l'analyse électrophorétique des gliadines grain par grain a fait l'objet d'une très large utilisation depuis 1975, dans la filière céréalière française, ainsi que dans plusieurs grands pays céréaliers (Australie, Canada, Angleterre, Italie,...). Au début des années 1980, le BIPEA a estimé à environ 2500 le nombre d'échantillons (de 50 grains chacun) qui étaient analysés annuellement par l'ensemble des laboratoires de la meunerie, de la semoulerie, de certaines coopératives et des silos portuaires. Le procédé conserve aujourd'hui toute sa valeur par

les services qu'il rend aux utilisateurs (56). C'est en effet le seul à pouvoir fournir des renseignements objectifs sur la **composition variétale des lots commerciaux**. Sa mise en oeuvre apparaît très rentable compte tenu de l'importance économique des transactions qu'il permet de contrôler. L'effet dissuasif qu'il a exercé aux différents niveaux de la collecte, du classement et de l'exportation a été extrêmement net dès sa première année d'utilisation.

Pour améliorer l'information et la formation des laboratoires, pour permettre une bonne concordance des résultats entre laboratoires et proposer l'agrément officiel des laboratoires chargés d'analyses à la demande de la Chambre Arbitrale, une commission "Électrophorèse", un circuit mensuel d'analyses et groupe d'experts "Électrophorèse des gliadines", dont nous avons été le responsable scientifique pendant dix ans, ont été créés dans le cadre du BIPEA. Différents manuels d'instructions (100)(115)(116)(117) et une Norme AFNOR (130) ont été également rédigés.

## 2.5 - Évolution des techniques d'électrophorèse pour l'identification variétale

Dans le but de simplifier la méthode, d'améliorer son pouvoir de résolution et de discriminer davantage de variétés, nous avons respectivement testé de nouveaux appareillages et de nouveaux supports (71)(75), en cherchant notamment à substituer au gel d'amidon le gel de polyacrylamide dans sa version classique (A-PAGE) ou en milieu dénaturant (SDS-PAGE) (16)(71). Ce dernier, également applicable aux gluténines du grain, était susceptible d'apporter une information génétique plus large. Dans le cadre d'une Convention avec l'IRTAC nous avons également évalué les potentialités de différents systèmes (électrophorèse en gradient, électrofocalisation, électrophorèse bidimensionnelle, RP-HPLC) susceptibles de se substituer ultérieurement à l'électrophorèse classique (105). A la suite de ces travaux, les laboratoires français pratiquant l'identification variétale par électrophorèse ont adopté respectivement les techniques de A-PAGE (dans une version verticale rapide : 1h 30) pour les blés tendres et de SDS-PAGE pour les blés durs.

Une extension de la méthode permettant une identification des variétés d'orges et de malts a été également réalisée, tout d'abord avec le Pr. R. SCRIBAN (53)(68)(74), puis, en se fondant sur les diagrammes SDS-PAGE des hordéines, dans le cadre d'une collaboration avec le TEPRAL (Thèse de A. MONTEBAULT) (21)(24)(77)(78).

## 2.6 - Automatisation de l'identification variétale par informatisation de la lecture des électrophorégrammes.

Ce tout dernier développement était justifié par le caractère encore relativement "artisanal" de la lecture des électrophorégrammes : décodage visuel, identification par lecture d'une clé, document remis à jour chaque année manuellement. Le procédé devait donc être réexaminé en intégrant les progrès réalisés en matière de saisie et de traitement informatiques des données biochimiques, ou même des systèmes de lecture des "codes barres". Le problème de l'identification des variétés en mélange dans des produits broyés (farines industrielles) - qui n'est



actuellement résolu dans aucun pays - a fait l'objet d'une attention particulière (AIP-INRA et Contrat de Plan État Région, pôle PRIAM).

On a pour cela écrit trois types de logiciels permettant :

- 1) la gestion d'une banque de données constituée par les diagrammes électrophorétiques (mobilités et intensités des bandes, après décodage visuel) des différentes variétés de blés français,
- 2) l'interrogation des fichiers sur la base de la présence ou de l'intensité des bandes, système "ouvert" qui se substitue aux anciennes clés de détermination et qui permet des mises à jours sans entraîner de modification ou de refonte des clés dichotomiques,
- 3) le calcul d'indices de similarité permettant la comparaison d'un diagramme inconnu avec ceux de la banque de données et l'identification des variétés présentant un diagramme identique, ou les diagrammes les plus proches (30).

Pour éviter l'étape de décodage visuel, nous avons ensuite interfacé un densitomètre à laser à un microordinateur de manière à saisir directement les diagrammes. Un autre programme a alors été écrit pour réaliser la digitalisation des courbes, le filtrage du signal, la correction de ligne de base, la recalibration des diagrammes en mobilités et intensités relatives (grâce à des témoins de poids moléculaire) et une comparaison (calcul d'indices de similarité) avec la banque de données. A condition de disposer de diagrammes possédant un niveau de résolution répétable (tel est actuellement le facteur limitant du système), l'identification entièrement automatique d'une variété inconnue devient possible (37)(90).

Simultanément, en relation avec le Pr. Y. ESCOUFIER (Biométrie-Montpellier) et D. BERTRAND (INRA-Nantes), l'introduction d'outils mathématiques (ACP, AFD, transformées de Fourier) du type de ceux utilisés pour les spectres infrarouges a permis de commencer à progresser dans le traitement (structure mathématique, fluctuation intravariétale) des courbes densitométriques discrétisées complètes (et non plus seulement d'un petit nombre de couples mobilité/intensité) (VIRION). Le fait de pouvoir caractériser une variété par une famille de courbes et non par un spectre simplifié unique a permis d'aborder le cas des mélanges variétaux inconnus. Mais, si cette approche a bien permis la discrimination des variétés pures, aucune méthodologie suffisamment précise et fiable n'a pu encore être proposée pour le cas de variétés en mélange dans les farines industrielles.

### III - BIOCHIMIE-GENETIQUE DES BLES

L'intérêt des outils biochimiques - particulièrement les techniques électrophorétiques et les déterminations de séquences N-terminales d'acides aminés - a été examiné dans le but de résoudre des problèmes de nature génétique ou cytogénétique et mettant en jeu des marqueurs (protéiques ou enzymatiques) de certains caractères technologiques ou agronomiques. Plusieurs de ces études ont été menées avec nos collègues du Département de Génétique et Amélioration des Plantes dans le cadre du groupe de travail INRA "Biochimie-Génétique du Blé" (11)(73).

#### 3.1 - Identification de marqueurs chromosomiques et génomiques. Relations homéologiques entre les chromosomes des blés et des espèces voisines :

Différents programmes de l'Amélioration des Plantes ont pour objectif de transférer aux blés des gènes de résistance aux maladies par croisements interspécifiques ou intergénériques (Blé x *Aegilops*, Blé x *Agropyrum*, ou Blé x Seigle). Il est apparu que l'avancement de ces programmes de sélection par introgression pouvait être facilité par l'examen des diagrammes électrophorétiques de marqueurs protéiques ou enzymatiques, soit au niveau du choix des souches, grâce à la mise en évidence de relations homéologiques, soit au niveau de l'identification des lignées ayant effectivement hérité des fragments chromosomiques portant le (ou les) gène(s) intéressant(s).

Une première priorité a été donnée au génome D, considéré comme responsable du caractère panifiable du blé tendre. L'étude de différentes lignées aneuploïdes de blé et de nombreuses espèces sauvages a ainsi permis d'identifier chez les blés français plusieurs constituants gliadines (notamment du type  $\omega$ ) et gluténines, marqueurs du génome D (65).

L'étude d'aneuploïdes (lignées d'addition ou de substitution chromosomique) du blé dur a permis de montrer que les gènes codant pour les protéines ( $\gamma$ -gliadines) associées aux caractéristiques viscoélastiques du gluten de blé dur étaient localisés sur le bras court du chromosome 1B (20) et se trouvaient donc associés à ceux des LMW-gluténines (83)(98), à la différence des gènes de HMW-gluténines localisés sur les bras longs des chromosomes 1A et 1B (42)(81)(85).

L'analyse électrophorétique des gliadines (ainsi que des  $\beta$ -amylases et des peroxydases) de séries complètes de lignées d'addition chromosomique Blé x Seigle et Blé x *Agropyrum* a conduit à suggérer de nouvelles relations homéologiques entre les chromosomes de ces espèces et ceux du blé (13)(14). Dans le cas des croisements Blé x *Aegilops ventricosa*, l'étude des gliadines de 139 lignées d'addition a permis au contraire de conclure à une hétérogénéité structurale résultant de recombinaisons entre les différents génomes A, B, ou D, plutôt qu'à un marquage génétique des chromosomes des génomes D et Mv (22).

Une étude des principales familles protéiques de *Triticale* classiques (octo et hexaploïdes) mais également de types tétraploïdes vient d'être également réalisée en relation avec M.

BERNARD. Certaines juxtapositions inhabituelles de génomes A, B, D ou R viennent d'être observées, ce qui devrait contribuer à la connaissance des régulations intergénomiques et dans la vision globale de l'apport des chromosomes du génome D dans un contexte autre que celui du blé.

### 3.2 - Déterminisme génétique des gliadines et des gluténines de blé dur.

La connaissance de l'héritabilité des marqueurs est un préliminaire indispensable à l'introduction de ces derniers dans les programmes de sélection variétale.

Malgré de nombreuses difficultés d'interprétation liées à la complexité des électrophorogrammes de lignées hybrides et à l'existence de bandes recouvrant plusieurs espèces moléculaires différentes, l'examen de descendance F1 et F2 de différents croisements intervariétaux a permis d'observer que :

- les constituants gliadines et gluténines se transmettent "en bloc", première indication de l'existence de familles de gènes étroitement liés qui devait être démontrée ultérieurement pour toutes ces catégories de protéines de réserve (112).
- ces blocs correspondent à des allèles dont le déterminisme génétique est de type co-dominant (20).
- un même "locus complexe" peut englober des gènes de différentes classes de protéines, par exemple de  $\gamma$ - et d' $\omega$ -gliadines, mais aussi de LMW-gluténines, se trouvant ainsi génétiquement liés (et ayant peut-être divergé à partir d'un même gène ancestral), mais codant pour des protéines totalement différentes au plan physico-chimique et fonctionnel (81).

### 3.3 - Phylogénie des blés.

En complément des études électrophorétiques, une étude des séquences N-terminales d'acides aminés a été réalisée au cours d'un stage postdoctoral en Californie dans l'équipe de D.D. KASARDA.

L'analyse globale des gliadines totales isolées de 8 espèces de Triticinées (*T. aestivum*, *T. boeoticum*, *T. urartu*, *A. speltoïdes*, *A. squarrosa*,...) a montré que toutes ces espèces possèdent une même séquence N-terminale dominante chez leurs gliadines, séquence correspondant à celle des  $\alpha/\beta$ -gliadines du blé tendre. Les prolamines de seigle, au contraire, possèdent une séquence très différente, mais qui s'apparente à celle (dite ancestrale) de certaines  $\gamma$ -gliadines du blé (17)(69).

L'étude des séquences N-terminales (sur 25-28) de différents constituants  $\omega$ -gliadines des blés isolés par chromatographie d'échanges d'ions et par électrofocalisation préparative (67)(70) a permis de découvrir trois nouveaux types de séquences (types SRL, KEL et RQL), tous différents de la séquence  $\alpha/\beta$  dominante, mais présentant entre eux, après réalignement, une certaine

homologie (23)(72). En collaboration avec P. SHEWRY (Angleterre), il a été montré que l'une de ces séquences (RQL) se retrouvait chez une C-hordéine de l'orge (19). L'examen de ces séquences (présence de délétions, additions, duplications de portions de l'ADN) a permis de conforter l'hypothèse selon laquelle le polymorphisme élevé des prolamines de céréales provenait (au cours d'une évolution vraisemblablement récente au sein des graminées) de duplications de gènes, suivies d'une divergence par des mutations ponctuelles, des délétions, des additions et de nombreuses répétitions de portions de l'ADN, notamment de pentapeptides constitués essentiellement de glutamine et de proline (23).

## IV - RECHERCHE ET UTILISATION DE MARQUEURS BIOCHIMIQUES DE LA QUALITÉ TECHNOLOGIQUE EN SÉLECTION VARIÉTALE

Un effort a été entrepris par les généticiens et les sélectionneurs de céréales pour créer de nouvelles variétés de qualité technologique améliorée : blés tendres de bonne qualité boulangère et très productifs, blés tendres de force boulangère élevée (blés améliorants), blés durs de haute qualité culinaire. Le développement de microtests permettant une prédiction fiable et plus précoce de la valeur technologique potentielle sur des milliers de génotypes dans les programmes de sélection devrait permettre d'accélérer le progrès génétique (61). Nous considérons que les microtests biochimiques constituent des outils de choix dans ce domaine : application possible en grandes séries sur de micro échantillons, automatisation, hérabilité élevée, prise en compte des bases physico-chimiques de la qualité - lesquelles correspondent à des objectifs pérennes davantage compatibles avec le travail à long terme du sélectionneur (80)(88)(111).

Nous considérons que le succès de ces programmes passe par une distinction claire entre la qualité commerciale d'un échantillon (laquelle intéresse l'utilisateur meunier, boulanger ou pastier) et la valeur potentielle d'un génotype (laquelle intéresse le sélectionneur aux premiers stades de la sélection). La qualité commerciale peut être évaluée par exemple au moyen de tests directs de panification ou pastification qui prennent en compte l'influence de la variété et des facteurs culturaux. Au contraire, le sélectionneur doit pouvoir identifier la composante purement génotypique de la qualité. Les tests qu'il doit mettre en oeuvre ne peuvent donc pas être *a priori* ceux qui conviennent à l'utilisateur industriel (96)(98)(121)(122).

### 4.1 - Composition protéique et qualité boulangère des blés tendres.

A partir des travaux de mise au point d'un test direct d'appréciation de la force boulangère (méthode de micropanification de BOURDET) auxquels nous avons initialement participé (4)(12)(45), nous avons contribué au développement de plusieurs microtests auprès des sélectionneurs de blé (88).

La mesure des propriétés viscoélastiques du gluten a été particulièrement étudiée et a servi de référentiel de la qualité pour des études biochimiques plus fondamentales (82).

A partir d'une expérimentation multilocale réalisée dans le cadre du Contrat INRA - GIE "Club des 5", nous avons ainsi étudié la fiabilité et l'intérêt pratique de plusieurs des microtests mis au point au laboratoire : fermeté, recouvrance élastique et hydratation du gluten (Thèse de E. HOULIAROPOULOS), détermination de la fraction "gel protéique" (Thèse de M.F. GAUTIER), solubilité des protéines dans les savons (travaux de K. KOBREHEL). Si cette dernière méthode apparaît fortement influencée par les facteurs d'environnement, le gel protéique et les propriétés viscoélastiques du gluten présentent une bonne aptitude à discriminer les génotypes et à prédire, sur de faibles quantités d'échantillons, la qualité boulangère des blés, particulièrement la composante rhéologique (force boulangère). D'autre part, une relation a été trouvée entre les propriétés viscoélastiques du gluten, la teneur en gel protéique des farines, et la composition

électrophorétique en "sous-unités" HMWG (88), confirmant les travaux antérieurs qui ne se référaient qu'à des critères directs de la qualité.

Certains de ces tests (viscoélasticité, solubilité) se sont également révélés utiles pour la prédiction de la qualité des farines destinées à la glutennerie et pour l'appréciation de certaines composantes de la qualité des glutens industriels (29)(102)(Contrat MRT "Glutens industriels"), bien que des recherches complémentaires (actuellement en cours dans un programme IRTAC) soient encore nécessaires pour conclure définitivement.

#### 4.2 - Intérêt de la technique d'HPLC pour la prédiction de la qualité boulangère.

Récemment, une nouvelle approche a privilégié l'étude des propriétés agrégatives des protéines pour l'appréciation de la qualité boulangère des blés (Contrat INRA - GIE "Club des 5"). Le caractère panifiable d'un blé repose en effet sur l'aptitude de ses protéines à former des complexes, des réseaux, des agrégats au cours des processus de transformation. Or, l'utilisation des techniques d'électrophorèse (ou de RP-HPLC) implique toujours une destruction préalable des complexes protéiques natifs. L'idée était donc de préserver au maximum l'état d'agrégation des complexes protéiques "natifs" pour en déduire une estimation de la qualité boulangère. La technique chromatographique classique sur colonne étant incompatible avec les besoins de la sélection, seules les techniques d'HPLC appliquées aux complexes protéiques pouvaient répondre au problème. Les travaux en cours depuis 3 ans ont permis d'optimiser les conditions de solubilisation et de fractionnement des protéines (5 pics de taille moléculaire différente), d'améliorer la répétabilité et la fiabilité des résultats au plan de l'aptitude à discriminer des génotypes et des relations entre le profil d'élution et la qualité intrinsèque des blés. En particulier, le % de pic n° 1 (pic exclu : agrégats de taille > 800 KDa) et le % de pic n° 2 (agrégats intermédiaires : 150 à 800 KDa) semblent constituer de bons critères de prédiction (43)(88)(93)(Thèse de T. DACHKEVITCH).

Sous réserve d'études complémentaires d'héritabilité, actuellement en cours, l'outil HPLC paraît aujourd'hui présenter un intérêt en sélection des blés, notamment par son automatisation totale (depuis l'injection de l'échantillon jusqu'à la saisie et au traitement informatiques des données) (108). L'identification des régions de la courbe d'élution présentant une relation avec la qualité a été facilitée par le développement au laboratoire d'un logiciel de calcul et d'édition des "corrélogrammes" entre l'ordonnée de chaque point de la courbe d'élution et un indice de qualité technologique.

Une variante du procédé, développée en vue de maximiser les différences intravariétales (et non plus intergénotypiques) est également en cours d'étude dans le cadre du Contrat INRA-GMP, dont l'objectif est de parvenir à une appréciation rapide et automatisée (HPLC) de la classe de qualité boulangère des farines industrielles (Thèse de R. MERITAN).

#### 4.3 - Qualité technologique des blés durs.

Selon une démarche similaire, des microtests d'appréciation de la qualité technologique des blés durs ont été mis au point et évalués (dans le cadre du Contrat INRA - GIE "Blé dur") pour leur intérêt en sélection. Les principaux aspects de la qualité qui ont été abordés sont les

suiuants : couleur des pâtes alimentaires crues (indices de jaune et de brun), propriétés viscoélastiques du gluten et "état de surface" (collant et délitescence) des pâtes cuites (107).

#### 4.3.1 - Propriétés viscoélastiques du gluten et composition protéique.

Un résultat particulièrement intéressant (et d'ailleurs unique dans le domaine des relations entre qualité et composition biochimique) a été la découverte d'une relation extrêmement étroite entre la "qualité intrinsèque" des blés durs, c'est-à-dire la fermeté et la recouvrance élastique du gluten et la composition électrophorétique des gliadines (15)(18)(Thèse de R. DAMIDAUX). Le composant  $\gamma$ -gliadine "45" est ainsi apparu comme un remarquable marqueur d'une recouvrance élastique élevée, le composant "42", le marqueur d'une faible recouvrance élastique. D'où un outil extrêmement efficace pour la prédiction précoce (travail possible sur 1/2 grain dès la génération F2) de la qualité culinaire intrinsèque des lignées de blé dur (57)(76)(79)(110)(118). Les conséquences sur la sélection des blés durs ont été rapides : depuis plusieurs années, toutes les variétés inscrites au Catalogue Officiel sont de type "45"; toutes sont satisfaisantes au plan de la qualité du gluten.

La question restait cependant de savoir si les  $\gamma$ -gliadines "45" et "42" sont directement responsables des propriétés viscoélastiques du gluten (relation de cause à effet ou "fonctionnelle"), ou si la relation observée est simplement la conséquence d'une liaison génétique (25). D'autres protéines, particulièrement les LMWG, constituent également des marqueurs susceptibles de déterminer la qualité du gluten (83)(85). Cette question a donc été abordée sous un angle davantage physico-chimique (cf par. 5.1 ci-dessous). Récemment, des preuves plus solides du rôle fonctionnel des LMWG et du rôle de simple marqueur génétique des  $\gamma$ -gliadines 45 et 42 ont été apportées par la découverte d'un génotype recombinant possédant un gluten ferme et élastique, tout en renfermant la gliadine 42 et les LMWG caractéristiques du type 45 (36)(38)(89).

Contrairement au cas des blés tendres où ce sont les "sous-unités" HMWG qui jouent un rôle prédominant dans la qualité du gluten, chez les blés durs, ce sont les "sous-unités" LMWG qui déterminent en premier lieu la qualité. Les différences au niveau des HMWG ne paraissent en effet jouer qu'un rôle secondaire chez les blés durs (81). Toutefois, les HMWG, ainsi que d'autres constituants tels que les  $\alpha$ - ou les  $\beta$ -gliadines, pourraient, malgré leur effet mineur sur la qualité, être pris en compte en sélection pour affiner l'actuelle différenciation entre les deux classes "42" et "45" (40)(41).

#### 4.3.2 - État de surface des pâtes cuites.

Compte tenu que l'aspect rhéologique de la qualité culinaire est aujourd'hui maîtrisé, la priorité est désormais donnée au second paramètre essentiel de la qualité culinaire : l'état de surface des pâtes cuites. L'étude (notamment par analyse en composantes principales) de la qualité des 120 lignées examinées entre 1983 et 1985 dans le cadre des essais semi-industriels CTPS a permis de démontrer que le paramètre "état de surface" était influencé en premier lieu par la variété, mais n'était pas lié à la "viscoélasticité du gluten" (28). La mesure séparée de ces deux paramètres demeurait donc

indispensable (85)(107). Les caractères "collant" ou "délitescent" de la pâte cuite peuvent être aujourd'hui appréciés (à une échelle miniaturisée applicable aux stades F6 ou F7 d'un schéma de sélection) par un jury de dégustation après fabrication de semoules et de spaghetti. Toutefois, jusqu'à une époque très récente, on ne disposait d'aucun marqueur biochimique spécifique de ce caractère et on n'avait pas de piste pour comprendre ses bases physico-chimiques. Une première explication vient d'être suggérée en faisant appel aux interactions entre les LMWG (dont on connaît le fort caractère agrégatif) et certaines fractions de très faible poids moléculaire riches en SS + SH. Ces dernières, initialement désignées DSG (Durum wheat Sulfur-rich Glutenins) (38)(89), sont actuellement classées dans le groupe des CM-protéines grâce à la séquence complète du gène, récemment obtenue par les biologistes moléculaires. La possibilité de prédire l'état de surface des pâtes par un dosage immuno-chimique de ces protéines est actuellement à l'étude.

#### 4.3.3 - Autres aspects de la qualité des blés durs.

D'autres critères de la qualité des blés durs ont été évalués dans le cadre du Contrat INRA - GIE "Blé dur" : l'indice de jaune des pâtes (spectrophotométrie et dosage des pigments caroténoïdes), l'indice de brun (spectrophotométrie et électrophorèse des peroxydases), amenant à préciser l'indépendance entre la couleur jaune et la qualité culinaire et, d'autre part, l'antagonisme apparent (dont les bases moléculaires restent à établir) entre un faible indice de brun (faible activité peroxydasique) et une qualité culinaire élevée (107)(121). Une approche complémentaire des différences intra-variétales de qualité a été réalisée grâce à l'étude de différents produits de la mouture semi-industrielle du blé dur (lesquels correspondent - schématiquement - à différentes régions anatomiques du grain) (54)(55)(84).



## V - PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES ET FONCTIONNELLES DES PROTÉINES

Les propriétés du gluten, notamment le comportement viscoélastique, sont déterminées par la capacité particulière des protéines du blé à s'associer, à former (entre elles ou avec d'autres constituants lipidiques ou glucidiques) des agrégats, des réseaux, des complexes. Au plan moléculaire, l'existence de longs polymères linéaires est le plus souvent mise en avant pour expliquer ces propriétés. Dans le détail, ce phénomène est cependant mal connu. On n'a pas démontré avec certitude la nature (disulfure et/ou hydrophobe et hydrogène) des liaisons ou interactions intermoléculaires; on ignore les mécanismes d'agrégation des protéines entre le moment de leur biosynthèse et leur état final dans le grain mûr. En dépit de nombreux travaux (notamment, au laboratoire, les thèses de M.-F. GAUTIER, G. MALAK et E. HOULIAROPOULOS), on connaît mal le rôle respectif joué par les différentes "sous-unités" protéiques des gluténines dans la détermination des caractéristiques des produits finis, pas plus que l'effet exact des différentes transformations technologiques, depuis l'hydratation jusqu'à la cuisson ou au séchage, en passant par le pétrissage, le malaxage, ou le laminage.

**Une meilleure connaissance des propriétés physico-chimiques des protéines du blé et des céréales en général devrait donc contribuer à une meilleure maîtrise de la qualité technologique, tant par l'identification de marqueurs moléculaires spécifiques utilisables en sélection (ou permettant, le moment venu, des manipulations génétiques), que par la production de grains de qualité constante face à des conditions agro-pédo-climatiques changeantes, ou encore par une amélioration des processus de transformation technologique.**

A la suite des études réalisées en matière de composition protéique, de biochimie-génétique et des relations trouvées entre la présence de certains marqueurs protéiques et la qualité, deux modèles faisant intervenir les propriétés agrégatives des protéines ont été retenus ces dernières années pour contribuer à expliquer les relations entre la présence de certains marqueurs protéiques et les propriétés fonctionnelles observées en technologie : les protéines associées à la viscoélasticité du gluten de blé dur ( $\gamma$ -gliadines et LMWG) et les hordéines de l'orge.

### 5.1 - Les $\gamma$ -gliadines et les LMW-gluténines du blé dur.

Dans le but d'expliquer les bases physico-chimiques de la relation rapportée ci-dessus (par. 4.3.1) entre la nature des protéines codées au niveau du locus *Gli-B1* et les propriétés viscoélastiques du gluten de blé dur, on a purifié (par chromatographie et chromatofocalisation) les deux  $\gamma$ -gliadines "42" et "45". Peu de différences sont cependant apparues entre ces deux protéines, ni au plan quantitatif, ni dans leur composition en acides aminés ou leur carte d'hydrolyse trypsique (25). Les faibles différences observées dans l'hydrophobicité totale ou l'hydrophobicité de surface n'ont pas semblé non plus être à l'origine d'importantes différences de fonctionnalité dans le gluten (27). Les recherches se sont donc orientées vers les fractions LMW-gluténines.

D'une façon générale, le modèle des LMWG, chez les deux familles de blés durs "42" et "45", apparaît particulièrement précieux pour une étude des relations entre structure et propriétés fonctionnelles. Ces protéines sont en effet présentes dans l'albumen du grain sous forme de complexe de taille élevée, mais dont les "sous-unités" polypeptidiques ont des poids moléculaires de 35 à 50 KDa. Ce sont les fractions protéiques du gluten les plus mal connues, bien qu'elles en constituent au minimum 20 à 30 %. Leur très forte tendance à s'agréger et leur variabilité génétique (liaison avec les  $\gamma$ -gliadines "42" ou "45") indiquent respectivement qu'elles possèdent des propriétés fonctionnelles importantes en technologie et qu'elles contribuent à expliquer les différences intervariétales de qualité des blés, les  $\gamma$ -gliadines "42" et "45" n'apparaissant que comme marqueurs génétiques.

Après avoir caractérisé les LMWG par leur comportement agrégatif (par rapport aux gliadines classiques, de nature monomérique), on a identifié leurs principales "sous-unités" par chromatographie et par électrophorèse bidimensionnelle. Il est apparu que les deux familles génétiques de blés durs possèdent des teneurs très différentes en LMWG (27 % des protéines totales chez les types "45" et seulement 14 % chez les types "42"). Sans nécessairement évoquer de différence de fonctionnalité entre les deux types alléliques de LMWG, on a émis l'idée qu'une telle différence dans la teneur en fractions agrégatives pourrait expliquer les différences de qualité intrinsèque des blés durs (34)(86). Une nouvelle technique de caractérisation spécifique des "sous-unités" LMWG a été récemment mise au point par électrofocalisation en gel ultra-mince et par électrophorèse bidimensionnelle (91). Cela va rendre prochainement possible leur quantification précise par analyse d'images.

Le comportement agrégatif des LMWG du blé dur a été également évalué sous l'action de traitements thermiques. Le chauffage d'un gluten, le séchage à haute température ou la cuisson d'une pâte alimentaire entraînent ainsi une agrégation des protéines, beaucoup plus rapide pour les LMWG que pour les autres groupes protéiques (32)(60)(83). Ce phénomène peut être observé soit par la disparition des constituants électrophorétiques LMWG, soit par l'insolubilisation des complexes de taille élevée du profil SE-HPLC (89)(92)(101). L'hypothèse que ces LMWG pourraient participer (en association avec certaines protéines de très faible poids moléculaire riches en SS + SH) à l'explication du phénomène de collant des pâtes alimentaires a été récemment émise (38).

## 5.2 - Propriétés agrégatives des hordéines de l'orge.

Ce programme se justifie par le contexte actuel de dégradation de la qualité brassicole des orges destinées à la malterie-brasserie produites en France et de difficulté, pour les sélectionneurs, de prendre en compte le caractère particulièrement complexe de la qualité brassicole. Il a été abordé dans le cadre d'un Contrat MRT-INRA "Amélioration de la qualité brassicole des orges d'hiver" (104), puis d'un Contrat MRT-TEPRAL-CNRS-INRA "Qualité des matières premières en malterie-brasserie" (106), dont les partenaires étaient chargés d'étudier trois des principaux facteurs biochimiques de la qualité des orges, respectivement l'amidon, les amylases et le "manteau protéique".

Dans l'hypothèse de travail retenue, nous avons considéré que certaines catégories très agrégatives d'hordéines pouvaient, d'une part, entourer les granules d'amidon et limiter l'action des amylases au cours du maltage et du brassage et, d'autre part, résister plus longtemps à l'action des protéases. Cela expliquerait la suite de problèmes de fabrication rencontrés avec certaines orges, depuis une désagrégation insuffisante du malt, un faible taux d'extrait et des difficultés de filtration, et peut-être jusqu'à des perturbations dans l'alimentation azotée de la levure et dans la stabilité colloïdale de la bière (120).

Comme (contrairement au cas des blés) aucune relation entre la composition électrophorétique et la qualité technologique n'a pu être mise en évidence chez les orges, on s'est concentré sur les complexes protéiques en étudiant les propriétés de solubilité et d'agrégation des différentes catégories d'hordéines (Thèse de M.O. MILLET).

La méthode de SE-HPLC (analytique et préparative) a permis de déterminer le profil d'agrégation d'un extrait protéique d'orge et de localiser les fractions B-, C- et D-hordéines dans les différentes tailles d'agrégats. En milieu hydrophobe (SDS), ce sont les B- et les D-hordéines qui semblent responsables des agrégats de plus grande taille, les C-hordéines (homologues des  $\omega$ -gliadines du blé) n'étant pas agrégées. Le profil HPLC d'un extrait protéique (particulièrement le rapport : B-hordéines libres / B-hordéines agrégées), qui dépend de la variété, mais aussi des facteurs agro-climatiques, est apparu associé à certaines données du test de micromaltage. Il n'est toutefois pas exclu que dans le contexte (aqueux) du grain en cours de germination ce soient les fractions hydrophobes telles que les C-hordéines qui jouent un rôle dans la désagrégation de l'albumen en limitant la diffusion des substances solubles. Le fait que le rapport C/B-hordéines soit apparu très influencé par le type de fumure azotée pourrait d'ailleurs permettre une meilleure maîtrise agronomique de la qualité brassicole (Contrat "Protéines de l'orge" avec l'IRTAC).

Un autre résultat original a été la découverte, chez les orges d'hiver, de deux **niveaux d'agrégation différents au sein du grain d'orge**, avec prédominance des B-hordéines vers la périphérie du grain et des D-hordéines vers le centre. On a émis l'hypothèse que cette localisation des protéines les plus agrégatives pourrait constituer une première explication biochimique des performances technologiques généralement inférieures des types d'hiver par rapport aux types de printemps (106).

## VI - PERSPECTIVES DE DÉVELOPPEMENT DE NOTRE UNITÉ DE RECHERCHES

### 6.1 - Analyse du contexte économique.

Au sein du secteur agro-alimentaire, les céréales constituent un élément vital pour l'économie française et représentent la première source de devises. Elles apparaissent donc comme un créneau solide pour assurer le nécessaire développement de notre capacité économique et de notre potentiel de production.

Parallèlement à d'autres objectifs importants dans le domaine des céréales (politique de classement, problèmes de commercialisation, réduction des intrants, protection de l'environnement...) l'accent a été mis ces dernières années sur la nécessité d'améliorer sans cesse la qualité d'utilisation industrielle des productions de blés tendres, de blés durs et d'orges destinées à la malterie-brasserie, non seulement pour le marché français, mais, plus que jamais, pour préserver et accroître nos marchés d'exportation.

Des progrès considérables, dus environ pour moitié à la création de nouvelles variétés, ont marqué ces dernières décennies et l'accroissement des rendements (de 18 à 65 qx/ha en 40 ans) ne s'est pas faite au détriment de la qualité d'utilisation puisque, par exemple, l'indice W de l'Alvéographe Chopin est passé, au cours de la même période, de 80-90 à 200-220. La tâche des généticiens et des sélectionneurs français n'est cependant pas terminée. Elle doit être au contraire impérativement poursuivie, non seulement en raison d'une concurrence internationale de plus en plus sévère, mais aussi de l'évolution des technologies de fabrication (panification industrielle, réfrigération ou surgélation des pâtes, demande croissante de pains spéciaux pour "fast-foods",...) qui réclament des farines de plus en plus fortes et, pour l'exportation, de plus en plus riches en protéines. Actuellement, toute variété nouvellement créée se trouve dépassée en peu d'années, de sorte que les agriculteurs français ne manqueraient pas de s'approvisionner en semences auprès des pays étrangers si ces derniers parvenaient à créer des semences plus performantes que les nôtres. Dans un domaine stratégique dont dépend *in fine* l'indépendance alimentaire, il est certain que celui qui possèdera les semences les plus performantes détiendra un immense pouvoir.

**La création de nouvelles variétés dont la culture soit intéressante pour l'agriculteur (production élevée et régulière) et dont la qualité réponde aux exigences des différents utilisateurs et des consommateurs (blés tendres de force élevée, blés tendres de bonne qualité boulangère, blés durs de qualité culinaire élevée et de coloration satisfaisante, orges convenant à la malterie-brasserie,...) constitue donc un objectif essentiel et permanent pour toute la filière céréalière française.**

### 6.2 - Stratégie de notre Unité de Recherches.

Dans le cadre du Laboratoire de Technologie des Céréales, dont les travaux s'inscrivent dans le contexte général de l'amélioration de la qualité des variétés de céréales et des produits

céréaliers, l'objectif prioritaire que nous affichons pour notre Unité de Recherches est **l'acquisition de connaissances de base sur la qualité technologique des céréales afin de les mettre à la disposition des utilisateurs de la recherche** que sont les sélectionneurs, les industries des semences et les industries de transformation. S'il convient de ne pas perdre de vue d'éventuelles retombées appliquées (nouvelles méthodes d'analyse, microtests de sélection des variétés, gène susceptible d'être transféré), ce n'est pas là notre objectif prioritaire. Notre mission est d'abord **d'accumuler des connaissances pour être à même de répondre aux questions quand elles se posent**. Nous ne devons pas nous substituer au secteur aval, mais nous devons l'alimenter en connaissances scientifiques et techniques. Nous avons donc à nous poser régulièrement la question : **"quelle est la recherche de base dont nos partenaires ont besoin pour créer les types de céréales que la France et l'Europe devront produire demain ?"**

### 6.3 - Quelle recherche de base ?

Compte tenu des domaines de compétences de l'équipe, des moyens matériels, des collaborations existant au sein du Laboratoire de Technologie des Céréales avec nos collègues technologues et biologistes moléculaires; compte tenu des aussi des thèmes couverts par nos collègues du Département Technologie des Glucides et des Protéines, du Département d'Amélioration des Plantes, ainsi que par nos partenaires européens; il est apparu naturel et important de centrer nos travaux sur la **recherche des bases biochimiques, physico-chimiques et moléculaires de la qualité technologique des variétés de blés, plus particulièrement celles qui touchent aux protéines du grain**.

Si l'on observe que la notion globale de "qualité technologique" a souvent une connotation commerciale et qu'elle est fonction d'une politique économique parfois passagère, il est clair qu'il nous faut **investir sur des objectifs pérennes** - les seuls que peuvent réellement prendre en compte les généticiens et les sélectionneurs - et de préférence sur des modèles qui expriment de façon simple et objective un paramètre fondamental de la qualité, par exemple, la viscoélasticité du gluten ou les propriétés plastiques des pâtes.

Il est en effet certain que les différents problèmes de qualité qui se posent ne pourront être maîtrisés - et traduits en termes d'objectifs scientifiques pour la création et la sélection de nouveaux génotypes - que si on en a compris les bases biochimiques et moléculaires. Tout progrès dans cette connaissance sera alors susceptible de contribuer à l'amélioration de la qualité, quel que soit le problème particulier (évolution des technologies, nouvelles spécifications de qualité des clients importateurs) qui se posera.

D'une façon générale, nous considérons que **notre stratégie doit être de faire la synthèse des travaux des généticiens** (qui ont trouvé des corrélations entre l'importance de certains constituants protéiques et des données technologiques) **et ceux des physico-chimistes** (pour qui les différences de qualité s'expliquent nécessairement par des constituants possédant des propriétés fonctionnelles différentes). **L'une des grandes questions à résoudre est donc, schématiquement, de vérifier que les protéines identifiées comme marqueurs de la qualité peuvent être précisément celles qui possèdent des propriétés physico-chimiques et fonctionnelles remarquables.**

Cette stratégie devrait connaître un développement important à partir de 1989 grâce à notre participation au **Projet européen ECLAIR** dont l'objectif est d'adapter les blés tendres aux futurs besoins de l'utilisation industrielle et de l'exportation, c'est-à-dire de préparer les blés de l'an 2000.

Selon nous, cette stratégie implique également une **approche intégrant les outils de la biochimie classique et ceux de la biologie moléculaire**. Nos recherches doivent donc viser à l'identification des marqueurs protéiques présumés fonctionnels (pour lesquels il est essentiel d'isoler le gène), et donc d'obtenir des protéines purifiées afin de permettre la préparation de sondes moléculaires. En retour, les biologistes moléculaires contribueront à l'explication des propriétés fonctionnelles des marqueurs dès lors qu'ils obtiendront des données sur les séquences nucléotidiques permettant d'identifier le nombre et la localisation de groupements réactifs (cystéines, régions hydrophobes,...). En outre, la connaissance complète des séquences de clones génomiques (comprenant régions promotrices et séquences de régulation) permettra de mieux comprendre (et, ultérieurement, de maîtriser) les phénomènes relatifs à la biosynthèse et à la régulation de l'expression des marqueurs protéiques impliqués dans la qualité technologique (cf Projet européen BRIDGE à partir de 1990).

#### 6.4 - Principaux axes de recherches en cours de développement.

##### a) Les complexes protéiques responsables des différences génétiques de qualité des blés.

En se plaçant dans le schéma (cf par. 4.2 et V) selon lequel l'un des facteurs essentiels de la valeur d'utilisation des blés est la capacité particulière de leurs protéines à s'associer, à former des agrégats ou des complexes, on est amené, dans l'étude des bases physico-chimiques de la qualité, à privilégier l'approche du caractère agrégatif par rapport à des approches simplement fondées sur la solubilité ou l'électrophorèse. On a retenu pour cela de travailler sur les deux classes suivantes de complexes protéiques :

- chez les blés tendres, où c'est la composition allélique au niveau des loci *Glu-A1*, *Glu-B1* et *Glu-D1* qui semble déterminer en premier lieu la force boulangère des variétés, nous envisageons d'étudier certains aspects de la composition des HMWG.

- chez les blés durs, où c'est au contraire le locus *Gli-B1* (gliadines et LMWG) qui semble déterminer l'essentiel des propriétés viscoélastiques du gluten, le modèle retenu est celui des LMW.

##### b) Les HMW-gluténines des blés tendres.

Les "sous-unités" HMWG (90 à 130 KDa) apparaissent essentielles dans la détermination de la structure et des propriétés fonctionnelles (force boulangère) du gluten de blé tendre. D'une part, il existe des corrélations entre la présence de formes alléliques spécifiques HMWG et la qualité des génotypes de blé tendre; d'autre part, ces "sous-unités" se retrouvent de façon

prédominante dans les complexes protéiques de très haut poids moléculaire - base physico-chimique supposée de la force boulangère.

Cette étude est actuellement menée dans le cadre du nouveau programme prioritaire coordonné par P. FEILLET : "Produire des blés pour exporter". Nous y intervenons de la façon suivante :

- Dosage des principales "sous-unités" HMWG par densitométrie des diagrammes SDS-PAGE d'extraits protéiques totaux et par RP-HPLC (sous-programme coordonné par M. LAURIERE, qui doit développer de son côté une approche immunochimique), cette étape devant permettre de savoir si les différences d'effet observées pour les divers allèles ne proviennent pas tout simplement de différences quantitatives entre les différentes "sous-unités", comme c'est le cas avec les LMWG du blé dur.

- Étude des "sous-unités" HMWG, non pas simplement comme des produits individuels de gènes, mais pour leur contribution aux complexes protéiques de la farine ou du gluten (32). D'où l'idée d'examiner comparativement la participation des principales "sous-unités" HMWG (dont on connaît la corrélation - positive ou négative - avec la qualité boulangère) aux différentes tailles d'agrégats protéiques (SE-HPLC) (sous-programme coordonné par M. ROUSSET).

- Étude de l'évolution des complexes protéiques (SE-HPLC) au cours de la phase de fin de maturation du grain en vue de mieux comprendre l'influence des paramètres agro-climatiques sur la qualité phénotypique (sous-programme coordonné par J. LANDRY).

### c) Les LMW-gluténines des blés durs.

A la suite des travaux rapportés ci-dessus (par. 5.1), nous envisageons avec M.H. MOREL de purifier les principales "sous-unités" LMWG (celles de 44 à 51 KDa) des blés durs. Un tel travail n'a encore jamais été réalisé dans le monde en raison du caractère extrêmement agrégatif de cette classe de protéines, même après réduction des liaisons S-S et alkylation des groupements -SH. Il sera probablement nécessaire de réaliser des fractionnements (FPLC ou électrofocalisation préparative) en milieu très dissociant ou très hydrophobe. Une autre voie en cours d'exploration est le transfert des protéines sur membrane de type nitrocellulose ou PVDF à partir des spots d'électrophorèse bidimensionnelle. Nous tenterons alors d'expliquer les bases fondamentales du comportement agrégatif, à la fois par des études physico-chimiques à réaliser en collaboration avec nos collègues de Nantes (micro-séquençage N-terminal des acides aminés, détermination des liaisons ou interactions impliquées dans le processus d'agrégation, hydrophobicité de surface,...), et par l'approche de la biologie moléculaire (réalisation d'oligonucléotides de synthèse à partir de la séquence N-terminale, criblage d'une banque génomique, clonage et séquençage du gène) (cf par. 6.4d).

Parallèlement, d'autres protéines de très faible poids moléculaire (5,5 KDa et 9 KDa) ont été purifiées et sont actuellement étudiées dans le cadre de la thèse de F.P. MONNET. L'intérêt de ces protéines vient de leur homologie probable avec la "ligoline", protéine décrite pour son aptitude à fixer certains lipides au cours du pétrissage et de leur rôle, *in vivo*, de protéine de transfert des phospholipides. D'où la collaboration établie avec J.-C. KADER (Paris-VI) et D.

MARION (INRA-Nantes) en vue de vérifier la réalité et d'examiner les conséquences d'une telle fonction de transfert au cours de certains processus tels que la formation et le repos du gluten (modèle des structures hexagonales / lamellaires de D. MARION) et, ultérieurement, de cloner le gène correspondant (cf par. 6.4d).

d) Liaison étroite avec les biologistes moléculaires.

Pour appréhender les structures et les propriétés fonctionnelles intervenant dans la qualité, on n'a guère utilisé jusqu'ici que des méthodes descriptives au niveau des constituants protéiques. La logique scientifique exigeait donc qu'on aille plus loin et qu'on cherche à atteindre les mécanismes intimes mis en jeu dans l'explication de la qualité, de son expression et de son déterminisme génétique (AIP "Biologie Moléculaire Végétale")(103). Cela signifie remonter aux gènes eux-mêmes, à leur structure, à leur localisation et à leur fonctionnement. Seules les études moléculaires au niveau de l'ADN paraissent en effet en mesure de fournir l'explication complète des phénomènes observés et de permettre un jour d'intervenir sur ces derniers. Un nouvel objectif est donc de cloner, d'isoler et de séquencer les gènes des protéines directement impliquées dans la qualité : les gènes de structure qui codent pour ces protéines, mais aussi, dans la mesure du possible, les systèmes de régulation qui modulent leur expression.

Selon une démarche analogue à celle retenue pour d'autres problèmes : résistance des plantes aux herbicides, au froid, au milieu salin ou aux agresseurs biologiques, modification de la composition en acides aminés en vue de rééquilibrer la valeur nutritionnelle, nous avons pensé que le problème de la qualité devait être examiné en fonction des acquis récents de la biologie moléculaire végétale et notamment des techniques d'ADN recombinant.

Ayant récemment exposé (33) la stratégie qui peut être imaginée dans ce domaine, nous précisons seulement que nous ne concevons cette approche que comme un outil complémentaire (grâce à l'obtention des séquences nucléotidiques complètes) pour améliorer notre connaissance de la structure des marqueurs protéiques et parvenir à une explication plus complète des relations entre propriétés physico-chimiques et fonctionnelles. Les problèmes concernant l'organisation des gènes, l'identification des promoteurs ou des séquences de régulation et, *a fortiori*, les problèmes d'obtention de plantes transformées, ne pourraient être éventuellement considérés que dans le cadre d'une large collaboration au niveau français (groupes du GIS-Moulon et de Clermont-Ferrand) ou européen (European Laboratory Without Wall "Seed Proteins Genes") actuellement en cours de création.

A court terme, compte tenu du nombre de résultats déjà publiés sur les gènes de gliadines et de HMWG du blé tendre, les priorités sont les suivantes : isolement des gènes de LMWG du blé dur, espèce pour laquelle nous disposons de sondes et d'une banque génomique; isolement du gène de la protéine de transfert des phospholipides (ou ligoline) du blé tendre à partir d'une banque génomique et d'une sonde hétérologue préparée chez le maïs.

e) Développement de microtests biochimiques en sélection variétale.

Dans le cas des blés tendres, plusieurs microtests biochimiques (viscoélasticité du gluten, gel protéique, profil d'éluion des protéines en SE-HPLC) ont été retenus pour leur aptitude à



discriminer des géotypes et pour les corrélations trouvées avec certains paramètres de la qualité boulangère. Ces résultats ont été toutefois obtenus à partir de lignées avancées, voire de variétés inscrites. Dans la phase actuelle du Contrat INRA - GIE "Club des 5", il apparaît indispensable de s'assurer de la fiabilité des tests sur du matériel plus précoce (lignées F3 ou F2, bulks, descendance n'ayant subi aucune sélection par ailleurs). Il est également essentiel de préciser l'héritabilité des caractères analysés, notamment les critères de la SE-HPLC, et d'examiner la possibilité réelle de les intégrer dans des schémas de sélection en vraie grandeur.

Dans le cas des blés durs, les problèmes de couleur et de fermeté des pâtes étant considérés comme résolus au niveau de la sélection, l'effort porte désormais (voir le projet de K. KOBREHEL de dosage immunochimique des DSG-protéines) sur le paramètre "absence de collant et de délitescence" de la pâte cuite en cherchant à développer un microtest permettant la prédiction de ce paramètre.

#### f) Nouvelles ressources génétiques.

La compréhension des bases biochimiques et génétiques de la qualité des céréales serait facilitée si l'on disposait de matériels génétiques plus diversifiés ou plus élaborés qu'actuellement. Tant dans les programmes HMWG des blés tendres que LMWG des blés durs, il apparaît fondamental d'examiner de nouvelles ressources génétiques. La création par nos collègues généticiens de lignées de substitution chromosomique, ou de lignées isogéniques pour les marqueurs présentant un intérêt en technologie permettrait également de tester le rôle respectif des différents allèles.

Dans le cadre de deux projets européens, on envisage donc d'étudier la variabilité génétique et le rôle potentiel dans la qualité technologique des nouveaux types alléliques présents chez des géotypes exotiques et susceptibles d'être introduits chez les blés européens.

Dans le projet ECLAIR (cf également par. 6.4g), l'accent est mis sur la recherche de nouveaux allèles HMWG et LMWG marqueurs de certaines caractéristiques de la qualité boulangère (force, extensibilité, tolérance de la pâte; dans le projet AGRIMED, on a prévu d'explorer les ressources génétiques de blés durs et d'autres espèces tétraploïdes du bassin méditerranéen en vue de la création de nouvelles variétés à la fois résistantes à la sécheresse et de qualité élevée.

#### g) Problèmes d'expression de la qualité.

Il ne s'agit plus aujourd'hui de développer simplement des tests de prédiction d'une qualité intrinsèque élevée, mais il faut absolument **prendre en compte l'aspect régularité de la qualité**, lequel intéresse souvent davantage l'utilisateur industriel qu'un potentiel plus élevé mais s'exprimant de façon irrégulière. Il faut donc pouvoir sélectionner des variétés dont le niveau de qualité reste stable en dépit de facteurs agro-climatiques variables. Les tests de prédiction de la régularité n'existent pas aujourd'hui, mais ils peuvent émerger à partir d'une meilleure connaissance des problèmes de biosynthèse et d'accumulation des protéines dans le grain.

En effet, la formation des structures protéiques définitives (liaisons disulfures et interactions hydrophobes intermoléculaires), entre le moment de la biosynthèse et l'accumulation dans des corpuscules protéiques, et plus particulièrement, les remaniements qui interviennent en fin de maturation, constituent des points fondamentaux encore très mal élucidés, mais qu'il faut certainement prendre en compte pour comprendre la qualité phénotypique. Nous avons suggéré que les phénomènes de transformation des constituants du grain (agrégation des protéines, passage des phases lipidiques lamellaires vers des structures hexagonales) qui se produisent lors de la dessiccation (certainement très dépendants des paramètres climatiques qui règnent pendant cette période) pourraient expliquer l'expression de la qualité au sein d'un même génotype (35)(88). D'où l'intérêt de l'étude des complexes protéiques proposée ci-dessus (par. 6.4b) en relation avec les physiologistes.

Une des toutes premières priorités a donc été donnée à cette approche. Ainsi, le profil du nouveau poste de CR2 ouvert au sein de notre unité en 1989 a été orienté sur les problèmes d'expression et de stabilité de la qualité en relation avec l'histoire métabolique de la plante et les conditions de fin de maturation. Un développement important est également attendu dans le cadre de notre participation au projet européen ECLAIR.

Il faut enfin insister que le fait que l'aspect quantitatif de l'expression d'un allèle donné apparait pour nous essentiel (voir par. 5.1 l'exemple des deux allèles LMWG du blé dur). Il faut donc pour cela développer des outils très précis de dosage des "sous-unités" protéiques codées par les différents allèles (analyse d'images à partir des électrophorogrammes bidimensionnels) afin de déterminer avec précision le niveau d'expression des gènes et de vérifier que les effets observés pour ces différents allèles ne sont pas simplement d'origine quantitative. Dans ce dernier cas, plutôt que d'introduire un allèle favorable à la qualité (par sélection ou génie génétique), il conviendrait de se pencher sur les problèmes de régulation de manière à pouvoir moduler la synthèse de l'ensemble des protéines responsables de la qualité.

#### h) Étude de la qualité des semences d'orge.

Dans le cadre d'un programme prioritaire régional (Production de semences de haute qualité) portant sur plusieurs modèles de semences (soja, orge, légumineuses fourragères), nous envisageons d'utiliser les connaissances acquises sur les protéines de l'orge au niveau de la malterie (cf par. 5.2) pour participer à l'étude des bases biochimiques de la qualité des semences d'orge. Il y a en effet chez l'orge une assez bonne concordance entre les problèmes de qualité malticole et de qualité de la semence (c'est-à-dire l'aptitude pour une graine à reprendre rapidement une vie métabolique active). Pendant les premiers jours de la germination, il y a une convergence entre les intérêts du malteur et ceux de la graine en train de germer.

En relation étroite avec les agronomes et les physiologistes, nous allons étudier la composition des protéines de l'orge, leurs propriétés agrégatives, leur cinétique d'accumulation (analyse d'images à partir des électrophorogrammes bidimensionnels), leur répartition histologique (immuno-cytochimie), en relation avec la variété, la nutrition azotée et l'alimentation hydrique, le métabolisme azoté (spectrométrie de masse du  $^{15}\text{N}$ ) des organes végétatifs (remobilisation de l'azote pour le remplissage du grain).

Les objectifs sont : 1) de déterminer les relations entre les propriétés des protéines de réserve et la qualité d'une semence en prenant l'orge pour modèle; 2) à déterminer l'influence respective des facteurs génétiques, agronomiques et physiologiques; 3) de proposer un test biochimique ou immunochimique permettant d'apprécier ou de prédire la qualité d'un lot de semences.

i) Détection et détermination du blé tendre dans les pâtes alimentaires séchées à haute ou à très haute température.

Ce programme ponctuel, soutenu au niveau de la CEE (programme BCR : Bureau Communautaire de Référence) vise à développer une nouvelle méthode de détermination du blé tendre applicable aux pâtes alimentaires et aux autres produits à base de blé dur, obtenus par les nouvelles technologies de séchage à haute ou à très haute température. Le développement de ces nouvelles technologies a en effet remis en cause les précédentes méthodes fondées soit sur la détermination d'une activité peroxydasique, soit sur la détermination par électrophorèse ou par immunodiffusion des protéines de type albumine spécifiques du génome D. Parallèlement à une nouvelle approche immunochimique du problème que mène actuellement K. KOBREHEL (utilisation d'épitopes communs à la protéine native et à la protéine dénaturée, ou d'épitopes spécifiques de la forme dénaturée), notre intervention repose sur le dosage densitométrique des  $\omega$ -gliadines du blé tendre, fraction à la fois spécifique du génome D et extrêmement thermostable en raison de l'absence de résidus cystéines.

**f**

## ANNEXE I

## LISTE DES PUBLICATIONS

Publications dans des revues à comité de lecture :

- (1) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1970. Histones de germes et de farine de blé. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 271, 2050-2053.
- (2) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1971. Constitution électrophorétique des histones de germes de différents types de blés. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 272, 2732-2735.
- (3) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1971. La détermination des constituants nucléiques du blé et leur répartition dans le grain. *Ann. Technol. agric.*, 20 (2), 179-183.
- (4) BOURDET A., BERRIER R. et AUTRAN J.-C. - 1972. Critères industriels et critères de sélection pour apprécier la valeur d'utilisation des blés tendres. *Ann. Technol. agric.*, 21 (2), 163-181.
- (5) AUTRAN J.-C. et BOURDET - 1973. 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, Série D*, 277, 2081-2084.
- (6) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1973. Originalité de constitution des histones du germe de blé. *C. R. Acad. Sci. Paris, Série D*, 277, 2553-2556.
- (7) AUTRAN J.-C. - 1974. Les désoxyribonucléoprotéines et les histones du grain de blé. Aspects physico-chimique et physiologique. *Ann. Technol. agric.*, 23 (1), 1-16.
- (8) AUTRAN J.-C. - 1975. Nouvelles possibilités d'identification des variétés françaises de blé par électrophorèse des gliadines du grain. *Industries Agricoles et Alimentaires*, 92 (9-10), 1075-1094.
- (9) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1975. 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*, 25 (3), 277-301.
- (10) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1975. Possibilités d'un contrôle variétal qualitatif et quantitatif dans les lots de blés commerciaux. *C. R. Acad. Agric.*, 11 Juin, 661-669.
- (11) AURIAU P., AUTRAN J.-C., CHARBONNIER L., DOUSSINAULT G., FEILLET P., GODON B., GRIGNAC P., JOUDRIER P., KOBREHEL K., KOLLER J., ROUSSET M., RIVALLANT S. - 1976. Variabilité génétique de la composition des gliadines,

gluténines,  $\beta$ -amylases,  $\alpha$ -estérases, peroxydases et phosphatases acides du blé (*T. aestivum*). *Ann. Amélior. Plantes*, 26 (1), 51-66.

- (12) BOURDET A., BERRIER R. et AUTRAN J.-C. - 1976. Appréciation de la force des blés tendres en sélection précoce. Étude comparée de différents tests miniaturisés. *Ann. Amélior. Plantes*, 26 (2), 265-277.
- (13) BERNARD M., AUTRAN J.-C. et JOUDRIER P. - 1977. Possibilités d'identification de certains chromosomes du seigle à l'aide de marqueurs biochimiques. *Ann. Amélior. Plantes*, 27 (3), 355-362.
- (14) CAUDERON Y., JOUDRIER P., AUTRAN J.-C. et KOBREHEL K. - 1978. Contrôle chromosomique des gliadines, des  $\beta$ -amylases et des peroxydases chez les lignées d'addition (*Triticum aestivum* x *Aegilops intermedium*). *Ann. Amélior. Plantes*, 28 (3), 257-267.
- (15) DAMIDAUX R., AUTRAN J.-C., GRIGNAC P. et FEILLET P. - 1978. Relation applicable en sélection entre l'électrophorégramme des gliadines et les propriétés viscoélastiques du gluten de *Triticum durum* Desf. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 287, Série D, 701-704.
- (16) AUTRAN J.-C., BUSHUK W., WRIGLEY C.W. and ZILLMAN R.R. - 1979. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams. IV. International comparison of electrophoretic methods. *Cereal Foods World*, 24 (9), 471-475.
- (17) AUTRAN J.-C., LEW E.J.-L., NIMMO C.C. and KASARDA D.D. - 1979. N-terminal amino acid sequencing of prolamins from wheat and related species. *Nature*, 282, 527-529.
- (18) DAMIDAUX R., AUTRAN and FEILLET P. - 1980. Intrinsic cooking quality evaluation in durum wheats through examination of gliadin electrophoregrams and measurements of gluten viscoelasticity. *Cereal Foods World*, 25, 754-756.
- (19) SHEWRY P.R., AUTRAN J.-C., NIMMO C.C., LEW E.J.-L. and KASARDA D.D. - 1980. N-terminal amino acid sequence homology of storage protein components (Prolamins) from barley (*Hordeum vulgare* L.) and a diploid wheat (*Triticum monococcum* L.). *Nature*, 286 (5772), 520-522.
- (20) DAMIDAUX R., AUTRAN J.-C., GRIGNAC P. et FEILLET P. - 1980. Déterminisme génétique des constituants gliadines de *Triticum durum* Desf. associés à la qualité culinaire intrinsèque des variétés. *C. R. Acad. Sci. Paris*, Série D, 291, 585-588.
- (21) MONTEBAULT A., AUTRAN J.-C., JOUDRIER P. and MOLL M. - 1982. Nouvelles perspectives dans l'identification des orges et des malts par électrophorèse des protéines. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 295, Série III, 205-208.

- (22) DOSBA F. et AUTRAN J.-C. - 1983. Les lignées d'addition Blé - *Aegilops ventricosa*. IV. Caractérisation des lignées et de leurs progéniteurs au moyen des électrophorogrammes gliadines. *Agronomie*, 3 (6), 555-567.
- (23) KASARDA D.D., AUTRAN J.-C., NIMMO C.C., LEW E. J.-L. and SHEWRY P.R. - 1983. N-terminal amino acid sequences of  $\omega$ -gliadins and  $\omega$ -secalins: implications for evolution of prolamin genes. *Biochim. Biophys. Acta*, 747, 138-150.
- (24) MONTEBAULT A., AUTRAN J.-C., JOUDRIER P. and MOLL M. - 1983. Varietal identification of barley and malt. *J. Inst. of Brewing*, 89 (4), 299-303.
- (25) COTTENET M., AUTRAN J.-C. et JOUDRIER P. - 1983. Isolement et caractérisation des composants  $\gamma$ -gliadines 45 et 42 associés aux caractéristiques viscoélastiques du gluten de blé dur. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 279, Série III, 149-154.
- (26) COTTENET M., FEILLET P. et AUTRAN J.-C. - 1984. Isolement et caractérisation de deux gliadines de faible poids moléculaire du blé dur: GFPM 45 et GFPM 42. Comparaison avec les gliadines 45 et 42. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 299, Série III (1), 11-16.
- (27) COTTENET M., KOBREHEL K. et AUTRAN J.-C. - 1984. Hydrophobicité des  $\gamma$ -gliadines 45 et 42 du blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Sciences des Aliments*, 4, 483-504.
- (28) AUTRAN J.-C., ABECASSIS J. and FEILLET P. - 1986. Statistical evaluation of biochemical and technological tests for durum wheat quality assessment in breeding. *Cereal Chem.*, 63 (5), 390-394.
- (29) AUTRAN J.-C., GODON B., KOBREHEL K., LAIGNELET B. et POPINEAU Y. - 1986. Recherche de tests de prévision et d'appréciation des caractéristiques quantitatives et qualitatives du gluten de blé. *Sciences des Aliments*, 6, 447-469.
- (30) AUTRAN J.-C. et ABBAL P. - 1986. Informatisation de l'identification variétale des céréales par électrophorèse: une première étape. *Industries Agricoles et Alimentaires*, 103 (6), 535-545.
- (31) AUTRAN J.-C. - 1986. Identification des céréales et autres plantes par électrophorèse. *Biofutur*, 51, 121-126.
- (32) SADOUKI H. et AUTRAN J.-C. - 1987. Mise en évidence du rôle de certaines gluténines de haut poids moléculaire dans la qualité boulangère des blés tendres en Algérie. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 20, 180-190.
- (33) JOUDRIER P., AUTRAN J.-C. et GAUTIER M.-F. - 1987. Pourquoi cloner les gènes des protéines de réserve du blé. *Biofutur*, 60, 46-54.

- (34) AUTRAN J.-C., LAIGNELET B. and MOREL M.H. - 1987. Characterization and quantification of low-molecular-weight glutenins in durum wheats. *Biochimie*, 69, 699-711.
- (35) GALTERIO G., BIANCOLATTE E. and AUTRAN J.-C. - 1987. Proteins deposition in developing durum wheat. Implications in technological quality. *Genetica Agraria*, 41, 461-480.
- (36) POGNA N., LAFIANDRA D., FEILLET P. and AUTRAN J.-C. - 1988. Evidence for a direct causal effect of low-molecular-weight subunits of glutenins on gluten viscoelasticity in durum wheats. *J. Cereal Sci.*, 7 (3), 211-214.
- (37) AUTRAN J.-C. and ABBAL P. - 1988. Wheat cultivar identification by a totally automatic soft-laser densitometry and computer-aided analysis of protein electrophoregrams. *Électrophoresis*, 9, 205-213.
- (38) FEILLET P., AIT-MOUH O., KOBREHEL K. and AUTRAN J.-C. - 1989. Role of low molecular weight glutenins in determining cooking quality of pasta products: an overview. *Cereal Chem.*, 66 (1), 26-30.
- (39) AUTRAN J.-C. - 1989. Soft wheat - View from France. *Cereal Foods World*, 34 (9), 667-676.
- (40) AUTRAN J.-C. and GALTERIO G. - 1989. Association between electrophoretic composition of proteins, quality characteristics and agronomic attributes of durum wheats. I. Protein-Protein associations. *J. Cereal Sci.* 9 (3), 179-194.
- (41) AUTRAN J.-C. and GALTERIO G. - 1989. Association between electrophoretic composition of proteins, quality characteristics and agronomic attributes of durum wheats. II. Protein- Quality associations. *J. Cereal Sci.* 9 (3), 195-215.
- (42) BRANLARD G., AUTRAN J.-C. and MONNEVEUX P. - 1989. High molecular weight glutenin subunits in durum wheat (*T. durum*). *Theor. Appl. Genet.* 78, 353-358.
- (43) DACHKEVITCH T. and AUTRAN J.-C. - 1989. Prediction of baking quality of bread wheats in breeding programs by size-exclusion high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* 66 (6), 448-456.

**Publications dans des revues techniques :**

- (44) AUTRAN J.-C. - 1970. Extraction et fractionnement analytiques des protéines. *La Meunerie Française*, 273, 16-24.
- (45) BOURDET A., BERRIER R. et AUTRAN J.-C. - 1973. Essai de cuisson miniaturisé pour apprécier la force des blés tendres. *La Meunerie Française*, 295, 11-14.

- (46) AUTRAN J.-C. - 1973. L'identification des variétés de blé. *Bull. Anc. Elèves E.F.M.*, 256, 163-169.
- (47) AUTRAN J.-C. - 1975. Identification des principales variétés communautaires de blé tendre par électrophorèse des gliadines du grain. *Bull. Anc. Elèves E.F.M.*, 270, 316-324.
- (48) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1975. Nouvelles possibilités de contrôle variétal qualitatif et quantitatif dans les lots de blés commerciaux. *Techniques des industries céréalières*, 150, 7-13.
- (49) BOURDET A. und AUTRAN J.-C. - 1976. Elektrophoretische Bestimmung des Gliadins zur Erkennung von Weizen mischungen. 27 Getreidekemiker Tagung 18-20 Mai, Detmold (R.F.A.). Die Muhle, 28 (113), 393. *Getreide, Mehl und Brot*, 30 (8), 203-207.
- (50) BOURDET A. and AUTRAN J.-C. - 1976. Elektroforeza gliadyn-nowa metoda oznaczania odmianowego Sktadu partii pszenic handlowych. *Przemyst Spozywczy*, 30, (8-9), 293-296.
- (51) BOURDET A. et AUTRAN J.-C. - 1976. L'électrophorèse et son application particulière à l'identification des variétés de blé. *Techniques des Industries Céréalières*, 155, 11-17.
- (52) GODON B. et AUTRAN J.-C. - 1976. Profils technologiques et caractéristiques électrophorétiques des variétés de blé tendre inscrites au Catalogue en 1975 et 1976. *Bull. Anc. Elèves E.F.M.*, 273, 129-131.
- (53) SCRIBAN R., AUTRAN J.-C., STROBBEL B. et NICOLAIDIS M. - 1979. Synthèse préliminaire des différentes recherches analytiques sur la chimiotaxonomie des orges et des malts. *Bios*, 10, (6), 80-87.
- (54) HOULIAROPOULOS E., ABECASSIS J. et AUTRAN J.-C. - 1981. Produits de mouture du blé dur: coloration et caractéristiques culinaires. *Industrie des Céréales*, 12, 3-12.
- (55) HOULIAROPOULOS E., ABECASSIS J. et AUTRAN J.-C. - 1982. Prodotti di macinazione del grano duro: colorazione e caratteristiche culinarie. *Tecnica Molitoria*, 33, 302-316.
- (56) AUTRAN J.-C., BERRIER R., JEANJEAN M.-F., JOUDRIER P. et KOBREHEL K. - 1981. Emploi de l'électrophorèse dans la filière "Céréales": possibilités et limites actuelles. *Industries des Céréales*, 8, 3-19.
- (57) SZANIEL I., PALV~OLGYI L. et AUTRAN J.-C. - La qualité des blés durs provenant de différents lieux de culture (en hongrois). *Production Végétale (Novénytermelès)*, 30, (3), 219-227.



- (58) VAN LONKHUYSEN H.J. und AUTRAN J.-C. - 1981. Identifizierung von Weizensorten. Bericht ~über eine internationale *Gemeinschaftsuntersuchung. Die Muhle + Mischfüttertechnik*, 27/28, 398-401. *Voedingsmiddelen Technologie*, 14 (21), 30-31.
- (59) AUTRAN J.-C., DAMIDAUX R. und JEANJEAN M.-F. - 1982. Bestimmung des genetisch bedingten "Teigwaren-kochpotentials" von Durumweizensorten anhand von Elektrophoregrammen von Glutenproteinen. *Getreide, Mehl und Brot*, 36, 29-33.
- (60) KOBREHEL, K., AGAGA D. et AUTRAN J.-C. - 1985. Possibilité de détection de la présence de la présence de blé tendre dans les pâtes alimentaires ayant subi des traitements thermiques à haute température. *Ann. Falsif. Exp. Chim.* 78 (836), 109-117.
- (61) BRANLARD G. et AUTRAN J.-C. - 1986. L'amélioration génétique de la qualité technologique du blé tendre. *Culture Technique*, 16, n° spécial INRA, 132-134.

**Exposés à des congrès :**

- (62) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1971. Improved electrophoretic fractionationns of wheat histones. American Chemical Society Meeting, March 28 - April 2, Los Angelès (USA).
- (63) AUTRAN J.-C. et BOURDET A. - 1972. Peut-on identifier avec certitude les variétés de blé cultivées d'après le diagramme électrophorétique de certaines protéines ? Symposium Franco-Soviétique: " Génétique des protéines du blé en liaison avec le problème de la qualité du grain". 21-23 Novembre, Léningrad, URSS.
- (64) BOURDET A. et AUTRAN J.-C. - 1974. Protéines et acides nucléiques du grain de blé. Leur répartition dans les produits de mouture et le germe. In: "Proc. IV° Int. Congress Food Sci. and Technol.", 1, pp. 380-391.
- (65) AUTRAN J.-C., FLEURY B., JOUDRIER P. et BOURDET A. - 1974. Blés hexaploïdes, blés tétraploïdes et espèces sauvages. Étude comparée de leur composition protéique et de l'hétérogénéité électrophorétique de certaines fractions. In: "Compte-rendu du Symposium Franco-Soviétique: Amélioration génétique de la qualité des blés durs", 18-21 Juin, Montpellier, pp. 35-45.
- (66) AUTRAN J.-C. - 1976. Nouvelles possibilités d'identification des variétés de céréales dans les lots commerciaux par électrophorèse des prolamines du grain. Exposé au 9° Congrès de l'Association Internationale de Chimie Céréalière (I.C.C.), 12-14 Mai, Vienne (Autriche).
- (67) AUTRAN J.-C. - 1977. New investigations about wheat gliadin components by means of isoelectric focusing. American Bakers Association Technical Liaison Committee. Meeting with U.S.D.A., February 23-25, Albany, California.

- (68) AUTRAN J.-C. et SCRIBAN R. - 1977. Recherche sur la pureté variétale d'un malt. European Brewery Convention. Proc. 16th Congress, Amsterdam, pp. 47-62.
- (69) AUTRAN J.-C., LEW E.J.-L., NIMMO C.C. and KASARDA D.D. - 1977. Relationship of rye and species of *Triticum* and *Aegilops* to common wheat (*Triticum aestivum*) as indicated by N-terminal amino acid sequencing of whole gliadin (prolamine) preparations. 62th Annual A.A.C.C. Meeting, October 23-27, San Francisco. + Cereal Foods World, 22, 9, abstract n° 478.
- (70) AUTRAN J.-C. - 1977. Relation entre le génotype de plusieurs espèces de céréales et l'hétérogénéité de leur fraction prolamine mise en évidence par électrofocalisation. Colloque Franco-Soviétique, 15-18 Novembre, Odessa (URSS).
- (71) AUTRAN J.-C. - 1978. Identification of wheat varieties by electrophoretic methods: future perspectives. 6° Congrès Mondial des Céréales et du Pain, 16-22 Septembre, Winnipeg (Canada).
- (72) AUTRAN J.-C., NIMMO C.C., LEW E.J.-L. and KASARDA D.D. - 1978. Comparison of  $\omega$ -gliadin components by N-terminal amino-acid sequencing. Colloque FAO/AIEA sur l'amélioration des protéines des céréales et des légumineuses, 4-8 Septembre, Neuhergerg (R.F.A.)
- (73) AUTRAN J.-C. et BRANLARD G. - 1978. Possibilité de détecter les modifications génotypiques du blé par électrophorèse des gliadines. Colloque FAO/AIEA sur l'amélioration des protéines des céréales et des légumineuses, 4-8 Septembre, Neuhergerg (R.F.A.)
- (74) SCRIBAN R., AUTRAN J.-C., STROBBEL B. et NICOLAIDIS M. - 1979. Synthèse des différentes recherches analytiques sur la chimiotaxonomie des orges et des malts. In: "European Brewing Convention. Proceedings of the 19th. Congress", Berlin, pp. 571-586.
- (75) AUTRAN J.-C. - 1979. Identification de la variété des blés par électrophorèse des gliadines. 9° Symposium International Technicon, 14-16 Novembre, Paris.
- (76) AUTRAN J.-C. - 1980. New breeding possibilities for high cooking quality through durum wheat gliadin and glutenin electrophoregrams. 65th Annual Meeting of A.A.C.C., September 21-25, Chicago. Cereal Foods World, 25, 8, 524. abstract n° 132.
- (77) MONTEMBAULT A., AUTRAN J.-C., JOUDRIER P. and MOLL M. - 1981. Varietal identification of barley. Proc. IVth Barley Genetics Symposium, July 22-29, Edinburg, pp. 167-170.
- (78) MONTEMBAULT A., AUTRAN J.-C., JOUDRIER P. and MOLL M. - 1981. Identification variétale de l'orge et du malt. 6° Congrès Mondial des Céréales et du Pain, 28 Juin - 2 Juillet, Prague.

- (79) AUTRAN J.-C. - 1981. Contribution à la recherche des bases biochimiques de la qualité culinaire. Colloque Franco-Soviétique "Biochimie et Génétique des Protéines du Blé", 10-12 Février, Clermont-Ferrand.
- (80) AUTRAN J.-C., JEANJEAN M.-F. et KOBREHEL K. - 1981. Les activités du Laboratoire de Technologie des Céréales en matière de développement de tests biochimiques d'appréciation de la qualité technologique des céréales en sélection. Colloque Franco-Soviétique "Biochimie et Génétique des Protéines du Blé", 10-12 Février, Clermont-Ferrand.
- (81) AUTRAN J.-C., BERRIER R. and JEANJEAN M.-F. - 1981. New data on the chemical and genetic composition of durum wheat gluten proteins. 66th Annual A.A.C.C. Meeting, October 26-29, Denver. Cereal Foods World, 26, 9, 499, abstract n° 124.
- (82) AUTRAN J.-C., HOULIAROPOULOS E. and LAIGNELET B. - 1982. Viscoelastic properties of bread wheat gluten: measurements, use in breeding and biochemical basis. 66th Annual A.A.C.C. Meeting, October, San Antonio. Cereal Foods World, 27, 8, 469, abstract n° 177.
- (83) AUTRAN J.-C. and BERRIER R. - 1984. Durum wheat functional subunits revealed through heat treatments. Biochemical and genetic implications. In "Proceedings of the 2nd International Workshop on Gluten Proteins", 1-3 May, Wageningen, Pays-Bas, pp. 175-183.
- (84) ABECASSIS J., AUTRAN J.-C. and KOBREHEL K. - 1987. Composition and quality of durum wheat mill streams. In: Proc. of the 1st European Congress of Food Science and Technology "Cereals in a european context", Bournemouth, UK, 1-3 july 1986, (I.D. Morton, Ed.), Ellis Horwwod Ltd, 6, 4, pp. 300-312.
- (85) AUTRAN J.-C. and FEILLET P. - 1987. Genetic and technological basis of protein quality for durum wheat in pasta. In: "Protein evaluation in cereals and legumes", Seminar in the CEC programme of coordination of agricultural research on plant productivity (V. Pattakou, Ed.), Thessaloniki, Greece, 23-24 October 1985, pp. 59-71.
- (86) AUTRAN J.-C., LAIGNELET B. and MOREL M.H. - 1987. Characterization and quantification of low-molecular-weight glutenins in durum wheats. Proc. 3rd International Workshop on Gluten Proteins, 6-9 May, Budapest, Hongrie (F. Bekes, Ed.) (sous presse).
- (87) GALTERIO G., BIANCOLATTE E. and AUTRAN J.-C. - 1987. Proteins deposition in developing durum wheat. Implications in technological quality. Proc. 3rd International Workshop on Gluten Proteins, 6-9 May, Budapest, Hongrie (F. Bekes, Ed.), (sous presse).

- (88) AUTRAN J.-C. - 1987. Biochemical tests for the evaluation of wheat technological: their potential in breeding programs. In: "Proc. Seminar on Hard Wheats in the E.E.C.: Agronomical, Biochemical, Genetic and Technological Aspects (B. Borghi, Ed.), San Angelo Lodigiano (Milano), Italy, 3-5 june, pp. 19-36. + *Tecnica Molitoria*, 38, 7, 557-558.
- (89) FEILLET P., AUTRAN J.-C. and AIT MOUH O. - 1987. Role of low molecular weight glutenin in determining cooking quality of pasta products. 72° Congrès de l'Association Américaine de Chimie Céréalière (A.A.C.C.), Nashville, Tennessee, 1-5 Novembre. + *Cereal Foods World*, 32, 9, 670. abstract n° 139.
- (90) AUTRAN J.-C. et ABBAL P. - 1987. Un procédé totalement automatique d'identification des variétés de blé par traitement informatique des électrophorogrammes protéiques. Exposé au 5° Colloque de la Société Française d'Électrophorèse, 12-14 novembre, Lyon.
- (91) MOREL M.H. et AUTRAN J.-C. - 1988. Caractérisation des gluténines de faible poids moléculaire des blés durs par une nouvelle méthode d'électrofocalisation et d'électrophorèse bidimensionnelle. Poster présenté au 6° Colloque de la Société Française d'Électrophorèse, 15-17 décembre, Juan les Pins.
- (92) AUTRAN J.-C., AIT-MOUH O. and FEILLET P. - 1988. Thermal modification of gluten as related to end-use properties. Presented at the Wheat Industry Utilization Conference (National Association of Wheat Growers Foundation), October 7-8, 1988, San Diego, California.
- (93) AUTRAN J.-C., DACHKEVITCH T. and FEILLET P. - 1988. Size-exclusion high-performance liquid chromatography of bread wheat and durum wheat proteins: An efficient tool for predicting quality in breeding programs and investigating physico-chemical basis of quality. Presented at the 73rd Meeting of the American Association of Cereal Chemists, October 9-13, 1988, San Diego, California + *Cereal Foods World*, 33 (8).
- (94) AUTRAN J.-C. - 1988. Soft wheat - View from France. Presented at the 73rd Meeting of the American Association of Cereal Chemists, October 9-13, 1988, San Diego, California + *Cereal Foods World*, 33 (8).

**Chapitres d'ouvrages, articles généraux :**

- (95) AUTRAN J.-C. - 1975. Blés: une nouvelle méthode d'identification. In "Universalia", (C. Gregory, Ed.), Encyclopaedia Universalis France, Paris, pp. 171-174.
- (96) AUTRAN J.-C. et ROUSSET M. - 1977. La qualité des blés. Colloque C.N.E.R.N.A. "Le Pain", 14 Novembre, Paris. In "Le Pain" (J. Buré, Ed.), Editions du C.N.R.S., 1979, pp. 15-42.

- (97) AUTRAN J.-C. - 1980. Qu'est-ce que la qualité des blés durs ? Plaquette FAO, 9 p.
- (98) AUTRAN J.-C. - 1981. Recent data on the biochemical basis of durum wheat quality. 2nd. Flavor Conference on the Quality of Foods and Beverages, July 20-24, Athènes. In "The Quality of Foods and Beverages, Vol. 1, (G. Charalambous and G. Inglett, Ed.), Acad. Press, pp. 257-273.
- (99) WRIGLEY C.W., AUTRAN J.-C. and BUSHUK W. - 1982. Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. In: "Advances in Cereal Science and Technology" (Y. Pomeranz, Ed.), American Association of Cereal Chemists, 5, (5), pp. 211-259.
- (100) AUTRAN J.-C. - 1984. Identification variétale à partir des constituants protéiques. In "Guide pratique d'analyse dans les industries des céréales". (B. Godon et W. Loisel, Ed.), Lavoisier-APRIA, 2, (2), pp. 47-67.
- (101) AUTRAN J.-C., AIT-MOUH O. and FEILLET P. - 1989. Thermal modification of gluten as related to end-use properties. In "Wheat is Unique", (Y. Pomeranz, Ed.), American Association of Cereal Chemists, 33, pp. 563-593.

**Rapports de Contrats ou d'A.I.P. :**

- (102) AUTRAN J.-C. et LAIGNELET B. - 1983. Compte rendu des travaux effectués dans le cadre du Contrat D.G.R.S.T. "Étude des aptitudes des blés tendres pour leur utilisation en amidonnerie- glutennerie, 27 p.
- (103) JOUDRIER P., COTTENET M., GAUTIER M.-F. et AUTRAN J.-C. - 1984. Étude de problèmes de synthèse de certaines gliadines au cours de la maturation du grain de blé. Rapport final de l'ATP "Biologie Moléculaire Végétale" CNRS, 19 p.
- (104) AUTRAN J.-C., JESTIN L. et CHERY J. - 1984. Méthodologie de l'amélioration de la qualité brassicole des orges d'hiver en vue de la sélection de variétés adaptées à l'industrie de la malterie-brasserie. Compte-rendu de fin de Contrat D.G.R.S.T. n° 81.C.0038, 92 p.
- (105) AUTRAN J.-C., BERRIER R. et CANTIN C. - 1985. Étude exploratoire de différentes méthodes de fractionnement des protéines du blé en vue d'apprécier leur potentialité à discriminer les variétés. Rapport final des travaux réalisés dans le cadre du Contrat I.R.T.A.C. "Électrophorèse", 61 p.
- (106) FLAYEUX R., AUTRAN J.-C., DAUSSANT J., KERHARDY F. et MILLET M.O. - 1985. Qualité des matières premières en malterie-brasserie: orge/malt. Compte rendu de fin d'étude d'une recherche financée par le Ministère de la Recherche et de la Technologie. Demande d'aide n° 84.G.0640, 90 p.

- (107) AUTRAN J.-C. - 1985, 1986, 1987, 1988. Rapport annuel de synthèse sur les analyses biochimiques et technologiques. Contrat INRA - GIE Blé dur.
- (108) AUTRAN J.-C. - 1988. Amélioration des céréales à paille. Rapport sur l'intérêt et les possibilités d'utilisation de la méthode HPLC pour l'appréciation de la qualité boulangère des blés en sélection. Rapport de Contrat INRA - GIE Club des 5, septembre, 14 p.

**Cours, conférences à des stages de formation, exposés divers :**

- (109) AUTRAN J.-C. - 1970. Extraction et fractionnement analytiques des protéines. Conférence au Cours de Formation C.P.C.I.A. "Protéines Végétales", 14 Avril, Massy.
- (110) AUTRAN J.-C. - 1978. Relation entre la composition électrophorétique des gliadines et les propriétés viscoélastiques du gluten de *Triticum durum* Desf. Journée d'étude sur la qualité culinaire des blés durs, 15 Décembre, Montpellier.
- (111) AUTRAN J.-C. - 1978. Méthodes d'études des isoprotéines des grains de céréales. Réunion du Groupe de Travail "Céréales à pailles", 28 Janvier, Versailles.
- (112) AUTRAN J.-C. - 1979. Déterminisme génétique de certains composants des gliadines. Compte-rendu de la Journée "Biochimie Génétique du Blé I.N.R.A.", 24 Avril, Paris, pp. 118-136.
- (113) AUTRAN J.-C. - 1980. Bilan des recherches effectuées pour l'amélioration de la qualité des blés durs. Orientations futures de recherches. Journée "Qualité des blés durs", 13 Juin, Montpellier.
- (114) MONNET F.P., LAIGNELET B. and AUTRAN J.-C. - 1987. Lipid-protein interactions and durum wheat gluten viscoelasticity. Poster présenté au 3rd International Workshop on Gluten Proteins, 6-9 may, Budapest, Hongrie.
- (115) AUTRAN J.-C. - 1975. Manuel d'instructions sur la technique d'identification des variétés de blé par électrophorèse des gliadines. Cours polycopié, Stage de formation AFPI-Céréales, 21 p.
- (116) AUTRAN J.-C. - 1979. Manuel d'instructions sur la technique d'identification des variétés de blé par électrophorèse des gliadines. 1. Gel d'amidon - 2. Gel de polyacrylamide. Cours polycopié, Commission Électrophorèse, BIPEA, 58 p.
- (117) AUTRAN J.-C. - 1980. L'électrophorèse et son application pour l'identification variétale et l'appréciation de la qualité des blés en sélection. Conférence au Cours de Formation C.P.C.I.A. "Nouvelles techniques analytiques dans les Industries Agricoles et Alimentaires", 20 Mai, Rungis.

- (118) AUTRAN J.-C. - 1981. Méthodes analytiques en cours d'étude en vue de l'appréciation de la qualité. In: Stage de formation "Le marché des pâtes alimentaires", 20-22 Mai, Marseille, pp. 138-143.
- (119) AUTRAN J.-C. - 1986. Cours d'électrophorèse. D.E.A. de Sciences Alimentaires, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 64p.
- (120) AUTRAN J.-C. - 1986. Derniers développements sur les protéines de l'orge et sur l'utilisation de l'électrophorèse pour la détermination de la pureté variétale et de la qualité des orges. Conférence à la Chambre Syndicale de la Malterie-Brasserie, 11 juin, Nancy.
- (121) AUTRAN J.-C. - 1987. Bases génétiques de la qualité des blés durs. Variabilité génétique de la composition. Diversité et hétérogénéité du matériel génétique. Conférence au Cours de Formation C.P.C.I.A. "Le Blé dur", 19-21 mai, Montpellier.
- (122) AUTRAN J.-C. - 1987. L'approche biochimique de la qualité en sélection. Place des critères biochimiques dans la détermination des composantes génotypiques de la qualité. Exposé à la réunion du Groupe Céréales de l'Amélioration des Plantes, 17-18 mars, Versailles.

**Mémoires universitaires et rapports divers :**

- (123) AUTRAN J.-C. et FERRISSE G. - 1967. Les produits de l'oléiculture: l'olive, l'huile d'olive. Étude bibliographique et enquête (E.N.S.I.A.), 210p.
- (124) AUTRAN J.-C. - 1968. Dextrinisation enzymatique des amidons. Rapport de stage aux Grands Moulins de Paris (Avril-Juin), 69p.
- (125) AUTRAN J.-C. - 1968. Dextrinisation enzymatique des amidons en vue de leur emploi dans l'industrie du papier pour les traitements de surface. Étude bibliographique (E.N.S.I.A.), 52p.
- (126) AUTRAN J.-C. - 1969. Étude des nucléoprotéines. Application au grain de blé. Étude bibliographique, 72p.
- (127) AUTRAN J.-C. - 1969. Étude de la répartition histologique des nucléoprotéines dans le grain de blé. D.E.A. de Physiologie Végétale Appliquée. Université de Paris VI, 73p.
- (128) AUTRAN J.-C. - 1973. Les désoxyribonucléoprotéines et les histones du grain de blé. Aspects physico-chimique et physiologique. Thèse de Doctorat Ès-Sciences Naturelles, Université de Paris VI, 20 Juin, 107 p.
- (129) AUTRAN J.-C. - 1974. La végétation de la presqu'île du Cap Sicié. *Étraves*, 31, 18-24.
- (130) AUTRAN J.-C. - 1981. Séparation de la fraction gliadine des protéines par électrophorèse en gel d'amidon. Norme AFNOR V 03-715.

## ANNEXE II

<b>LISTE DES THESES OBTENUES SOUS NOTRE RESPONSABILITE</b>
--

DAMIDAUX R. - Nouveaux critères de sélection pour l'amélioration de la qualité culinaire du blé dur. Thèse de Docteur-Ingénieur, Juillet 1979.

MALAK G. - Influence des traitements mécaniques sur certaines propriétés des protéines du blé tendre. Thèse de 3° Cycle, Juin 1981.

HOULIAROPOULOS E. - Détermination, utilisation en sélection variétale et base biochimique des propriétés viscoélastiques du gluten de blé tendre. Thèse de Docteur-Ingénieur, Janvier 1982.

MONTEBAULT A. - Étude génétique et biochimique des protéines de l'orge. Application à l'identification des variétés d'orge et de malt. Thèse de 3° Cycle, Juillet 1982.

COTTENET M. - Les gliadines du blé dur (*T. durum* Desf.). Caractérisation des composants associés à la qualité culinaire. Thèse de 3° Cycle, Juin 1984.

VIRION M.C. - (Encadrement commun avec D. BERTRAND et Y. ESCOUFIER) (Thèse de Mathématiques appliquées). Novembre 1988.

DACHKEVITCH T. - Étude des complexes protéiques de blé tendre par chromatographie liquide à haute performance de tamisage moléculaire (SE-HPLC) en relation avec la qualité technologique. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Avril 1989.

MONNET F.P. - Caractérisation d'une protéine de fixation de lipides du blé dur : purification, séquençage, ADN complémentaire. Relations aux protéines végétales de transfert de lipides et aux inhibiteurs d'amylase / trypsine des céréales. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Mars 1991.

MERITAN R. - Étude des protéines du blé tendre par chromatographie liquide à haute performance de tamisage moléculaire : Contribution à l'appréciation de la qualité boulangère. Thèse de Doctorat. Institut National de la Recherche Agronomique. Novembre 1990.

CHARDARD I. - Étude des interactions des protéines au cours des processus de fabrication et de traitements hydrothermiques des pâtes alimentaires - Rôle fonctionnel des fractions DSG. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Mars 1991.

Thèses actuellement en cours.



MILLET M.O. - Étude de la capacité agrégative des hordéines en tant que facteur de la qualité brassicole des orges. Soutenance prévue en 1991.

VIOLLE P. - Détection et dosage du blé tendre dans les produits de blé tendre ayant subi des traitements thermiques à haute température par emploi d'anticorps monoclonaux. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Soutenance prévue en Juillet 1991.

BENETRIX F. - Evolution des protéines de réserve de l'orge au cours de la maturation et de la germination du grain. Effets de différents traitements azotés. Rôle des hordéines dans la qualité de la semence d'orge. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Soutenance prévue en 1993.

GAZANHES V. - Les gluténines de faible poids moléculaire du blé tendre. Aspects génétiques et structuraux. Rôle dans la détermination de l'extensibilité de la pâte. Thèse de Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Soutenance prévue en 1993.

## ANNEXE III

### CONTRATS DE RECHERCHES ET ACTIONS INCITATIVES SUR PROGRAMME

#### Contrats que nous avons coordonnés :

- Méthodologie de l'amélioration de la qualité brassicole des orges d'hiver en vue de la sélection de variétés adaptées à l'industrie de la malterie-brasserie. Contrat D.G.R.S.T. (1982-1984).
- Identification des variétés d'orge et de malt par électrophorèse des hordéines. Contrat INRA-TEPRAL (1980-1983)
- Étude de problèmes de synthèse de certaines gliadines au cours de la maturation du grain de blé. ATP INRA "Biologie Moléculaire Végétale" (1983-1984).
- Informatisation de l'identification des variétés de blés par électrophorèse. Contrat MRT - Contrat de plan Etat-Région (Pôle PRIAM) - AIP INRA (1986-1987).
- Étude des gluténines de faible poids moléculaire du blé tendre en vue d'une appréciation rapide (HPLC) de la qualité des farines industrielles. Contrat INRA - GMP (1986-1989).
- Détection et dosage du blé tendre dans les pâtes alimentaires ayant subi des traitements thermiques à haute température. Contrat CEE (Bureau Communautaire de Référence) (1990-1992).
- To explore and improve the industrial quality of EC wheats. Contrat CEE (ECLAIR) (1990-1994).

#### Contrats auxquels nous avons directement participé :

- Étude des aptitudes des blés tendres pour leur utilisation en amidonnerie-glutennerie. DGRST (1980-1981).
- Étude exploratoire de différentes méthodes de fractionnement des protéines du blé en vue d'apprécier leur potentialité à discriminer les variétés. Contrat avec l'IRTAC (1984-1985).
- Qualité des matières premières en malterie-brasserie: orge/malt. Contrat MRT: CNRS-INRA-TEPRAL (1985-1987)

- Méthodologie de l'appréciation de la qualité des glutens industriels. Contrat INRA - IRTAC - Interprofession blé tendre (1987-1989).
- Création de variétés de blé dur de haute valeur technologique. Contrat INRA - GIE "Blé Dur" (1983-1991).
- Amélioration des céréales à paille: Programme qualité des blés. Contrat INRA - GIE "Club des 5" (1983-1992).
- Qualité des blés. A.I.P. INRA (1988-1990).
- Production de semences de haute qualité. Contrat de plan Etat - Région Languedoc-Roussillon (1989-1992).