

50 376
1981
214
N° d'ordre: 895

50376
1981
214

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE 3^e CYCLE

par

Thierry BURNOUF

**ELEMENTS DE RECHERCHE SUR LA VALEUR BOULANGERE
ETUDES ELECTROPHORETIQUES DES SOUS-UNITES
DE GLUTENINE ET LEUR DETERMINISME GENETIQUE**



Soutenu le *14 mai* 1981 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury M. BOURIQUET
Mlle COUSTAUT
Mlle PAUPARDIN
M. JEAN

AVANT-PROPOS

Nous tenons à remercier :

- Monsieur le Professeur Bouriquet, directeur du laboratoire de Physiologie Végétale de l'Université de Lille où a été effectué ce travail.

C'est avec une très profonde gratitude qu'il nous plait d'évoquer l'intérêt constant et l'écoute attentive que vous avez su réserver à notre étude. Nous avons été le témoin de vos efforts afin que s'établisse un climat de confiance fructueux entre le laboratoire et les milieux industriels du secteur agro-alimentaire.

- Mademoiselle le Professeur Coustaut, directrice du laboratoire de Physiologie Végétale de la Faculté de Pharmacie de Lille.

Nous savons que votre concours s'est révélé essentiel au développement de notre travail. C'est un très grand honneur pour nous que de vous compter parmi les membres de notre jury.

- Mademoiselle le Professeur Paupardin, directrice du laboratoire des Métabolites Secondaires de l'Université de Lille.

Vous avez montré une attention particulière à l'évolution de notre étude. Vos remarques, guidées par votre esprit d'analyse, ont profité à notre démarche de travail. Nous sommes heureux de la sympathie dont vous nous témoignez en participant à ce jury.

- Monsieur Jean, Docteur ès Sciences, Maître-Assistant au laboratoire de Cytogénétique et d'Ecologie de l'Université de Lille.

Vous nous avez initié à la génétique du monde végétal. Nous sommes honorés de votre présence dans le jury vu votre compétence en ce domaine.

Nous tenons à remercier vivement le Docteur P.I. Payne qui nous a reçu dans son laboratoire du Plant Breeding Institute de Cambridge. Les commentaires

éclairés et les suggestions qu'il a formulées sur l'importance des sous-unités de gluténine nous ont été d'un très grand profit.

Sans le concours de la Société Civile Agricole MOMONT-HENNETTE et Fils, du moulin WAAST, de la Société Française de Panification Moderne, l'étude du "tissu gluténique", selon l'expression chère à monsieur Waast, n'aurait pu voir le jour. Nous sommes infiniment reconnaissant envers Mrs. Michel Momont et Emile Waast pour l'impulsion efficace et l'enthousiasme qu'ils nous ont communiqués.

C'est avec un grand plaisir qu'il nous faut évoquer la très étroite et amicale collaboration entretenue avec monsieur P. Poullard, de la S.C.A. MOMONT-HENNETTE. Son travail consciencieux et sa continuelle participation à notre étude ont grandement facilité la réalisation de cette thèse.

Nous avons été initié au dosage ampérométrique des groupements soufrés par monsieur J. Dubois qui nous a aidé de même, et comme à l'accoutumé, à la réalisation des travaux photographiques. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de nos remerciements.

Nous sommes reconnaissants envers toutes celles et ceux qui nous ont aidé à l'accomplissement de cette étude, tout particulièrement monsieur Poulle et madame Facon, ainsi que madame Maës qui a dactylographié le texte.

TABLE DES MATIERES

-o-o-o-o-o-

INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	3
I) <u>LES GLUTENINES</u>	.
A) <u>ISOLEMENT DES GLUTENINES</u>	3
1) <u>Extraction</u>	3
2) <u>Séparation</u>	5
B) <u>QUELQUES CARACTERISTIQUES MOLECULAIRES</u>	6
1) <u>Poids moléculaire</u>	6
2) <u>Les sous-unités de gluténine</u>	6
C) <u>GLUTENINES ET VALEUR BOULANGERE</u>	9
II) <u>ELEMENTS DE GENETIQUE</u>	12
A) <u>CONTROLE GENETIQUE DE LA VALEUR BOULANGERE</u>	12
B) <u>CONTROLE GENETIQUE DE LA TENEUR EN PROTEINES DU GRAIN</u>	13
C) <u>GENETIQUE DES PROTEINES DE RESERVE</u>	14
1) <u>Chez différentes espèces</u>	14
2) <u>Chez le blé</u>	16
a) <u>Généralités</u>	16
b) <u>Génétiq<u>ue</u> des gliadines</u>	17
3) <u>Génétiq<u>ue</u> des gluténines</u>	18
III) <u>APPORTS DE LA MICROSCOPIE</u>	21
A) <u>LE GRAIN IMMATURE</u>	21
B) <u>LES PATES BOULANGERES, EFFET DU PETRISSAGE</u>	22
C) <u>LES FRACTIONS PROTEIQUES ISOLEES</u>	23
1) <u>Les gluténines</u>	23

2) <u>Les gliadines</u>	24
IV) <u>GROUPEMENTS THIOLS ET PONTS DISULFURES</u>	24
MATERIEL ET METHODE	28
I) <u>ECHANTILLONS ANALYSES</u>	28
A) <u>LES CULTIVARS DE BLE</u>	28
1) <u>Origine française, fournis par la S.C.A.A. MOMONT</u>	28
2) <u>Origine française, fournis par la maison de sélection Florimond-Desprez</u>	28
3) <u>Origine française, fourni par la Maison de sélection Benoist</u>	28
4) <u>Origine anglaise, fournis par la S.C.A. A. MOMONT</u>	28
5) <u>Origine hollandaise, fourni par la S.C.A. A. MOMONT</u>	28
6) <u>Origine Nord-américaine, fournis par la S.C.A. A. MOMONT</u>	29
B) <u>DES LIGNEES NULLI-TETRASOMIQUES ET DITELOCENTRIQUES</u>	29
C) <u>DES GRAINS F₁ ET F₂</u>	29
II) <u>MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE</u>	29
A) <u>LES FARINES</u>	29
B) <u>LES PATES</u>	29
C) <u>L'EXTRAIT PROTEIQUE A.U.C.</u>	30
D) <u>LES FRACTIONS PROTEIQUES PURIFIEES</u>	31
III) <u>DETERMINATION DES GROUPEMENTS SOUFRES</u>	31
A) <u>MATERIEL</u>	31
B) <u>PRINCIPE - APPAREILLAGE</u>	31
C) <u>REALISATION DU DOSAGE</u>	31
1) <u>Détermination des -SH</u>	31

2) <u>Détermination des -S-S-</u>	31
IV) <u>EXTRACTION DES PROTEINES TOTALES</u>	31
V) <u>TAMISAGE MOLECULAIRE DES PROTEINES TOTALES</u>	31
VI) <u>EXTRACTION DES GLUTENINES ET ANALYSES DES SOUS-UNITES</u>	32
1) <u>Extraction des gluténines</u>	32
2) <u>Electrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS</u>	32
RESULTATS	34
1ERE PARTIE : RECHERCHES SUR LA VALEUR BOULANGERE	34
=====	
I) <u>APPORTS DE LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE</u>	35
II) <u>LES GROUPEMENTS SOUFRES</u>	36
1) <u>Effets de la N-éthyl maléimide (NEM)</u>	37
2) <u>Effets de sulfite de sodium</u>	37
3) <u>Dosage des groupements soufrés</u>	37
III) <u>FRACTIONNEMENT CHROMATOGRAPHIQUE DES PROTEINES</u>	41
IV) <u>COMPOSITION EN SOUS-UNITES DE GLUTENINE</u>	42
A) <u>COMPOSITION DE DIVERSES CEREALES EN SOUS-UNITES DE GLUTENINE</u>	42
B) <u>COMPOSITION DES CULTIVARS DE BLE TENDRE EN SOUS-UNITES DE GLUTENINE</u>	45
1) <u>Variabilité de la composition en sous-unités de glu-</u> <u>ténine</u>	45
2) <u>Relations avec la valeur boulangère</u>	48
a) <u>Analyse d'ensemble</u>	48
b) <u>Influence individuelle des sous-unités</u>	48
3) <u>Comparaisons avec 10 cultivars Nord-américains</u>	52

ZEME PARTIE : APPROCHE DU DETERMINISME GENETIQUE DES SOUS-UNITES =====		
DE GLUTENINE		54
I) <u>ETUDE D'ESPECES APPARENTÉES AU BLE HEXAPLOIDE</u>		55
II) <u>ANALYSE DES LIGNEES ANEUPLOIDES DE CHINESE SPRING - LOCALISATION DES GENES</u>		57
III) <u>CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRANSMISSION HEREDITAIRE DES SOUS-UNITES DE GLUTENINE</u>		58
A) <u>GENERATION F1</u>		58
B) <u>GENERATION F2</u>		64
1) <u>Croisements réciproques entre Capitole et Maris-</u> <u>Huntsman</u>		68
2) <u>Croisements réciproques entre Capitole et Clément</u>		68
3) <u>Croisements réciproques entre Hardi et Maris-Huntsman</u>		70
4) <u>Croisements réciproques entre Hardi et Clément ..</u>		70
5) <u>Commentaires généraux sur les électrophorégrammes</u> <u>des grains F2</u>		71
DISCUSSION		73
I) <u>CONTRIBUTION DES GROUPEMENTS SOUFRES</u>		73
II) <u>QUANTITE DE GLUTENINE ET VALEUR BOULANGERE</u>		76
III) <u>ELECTROPHOREGRAMMES DES CONSTITUANTS GLUTENINES</u>		77
A) <u>RELATION AVEC LA VALEUR BOULANGERE</u>		77
B) <u>LES SOUS-UNITES DE GLUTENINE JOUENT-ELLES UN ROLE FONCTIONNEL ?</u>		79
C) <u>FIABILITE DE LA METHODE</u>		80
1) <u>Reproductibilité</u>		80
2) <u>Résolution</u>		80

D) <u>ROLES DES DIFFERENTS GENOMES</u>	83
E) <u>TRANSMISSION GENETIQUE DES SOUS-UNITES</u>	85
CONCLUSION	89
B I B L I O G R A P H I E	91

GLOSSAIRE

Les définitions mentionnées sont inspirées du dictionnaire de génétique de RIEGER et al. (1976).

Allopolyploïdie : phénomène naturel ou induit expérimentalement entraînant une multiplication (doublement, triplement, etc...) du lot chromosomique. Provenant d'espèces ou de genres différents, l'allopolyploïdie est toujours précédée de croisements interspécifiques ou intergénériques. Ainsi, le blé tendre est un allohexaploïde car il est fait de l'addition de trois génômes à l'état diploïde provenant de trois espèces différentes.

Aneuploïde (plante) : plante dans laquelle un ou plusieurs chromosomes sont soustraits ou adjoints au caryotype.

Ditélocentrique (lignée) : se dit d'une lignée caractérisée par l'absence de deux bras chromosomiques homologues de sorte que les deux bras restants forment chacun un chromosome télocentrique (à centromère terminal). Ainsi, chez le blé, les deux bras longs du chromosome 1 D sont absents dans la lignée 1 D S.

Homéologues (chromosomes) : chromosomes présentant des similitudes, marques d'une homologie ancestrale, et pouvant s'apparier ou non. Ils portent à un locus défini, les allèles d'un même gène comme les chromosomes homologues.

Homologues (chromosomes) : chromosomes morphologiquement semblables, s'appariant régulièrement à la méiose et qui portent à un locus défini les allèles d'un même gène.

Monosomique (plante) : plante où un même chromosome est absent. Chez le blé hexaploïde, une plante monosomique a 41 chromosomes, chez le blé tétraploïde, 27.

Nullisomique (plante) : plante où une même paire de chromosome est absente.

Nulli-tétrasonique (lignée) : lignée de plantes chez lesquelles l'absence de deux chromosomes homologues est compensée par la présence en quatre exemplaires d'un chromosome homéologue.

Substitution (lignée de) : lignée dans laquelle une paire de chromosomes est transférée d'une variété dite donneuse dans une variété réceptrice.

ABBREVIATIONS

A.U.C. : tampon de composition suivante :

Acide acétique : 0,1 M

Urée : 3 M

C.T.A.B. : 0,01 M

C.T.A.B. : Bromure de Cétyle Triméthyle Ammonium

H.P.M. : Haut poids moléculaire

"PAGE" : Electrophorèse en gel de polyacrylamide

P.M. : Poids moléculaire

S.D.S. : Dodécyle sulfate de sodium

INTRODUCTION

La valeur boulangère des variétés de froment est la résultante de deux notions relatives aux propriétés des farines. La force boulangère, tout d'abord, qui est liée à la quantité et à la qualité du gluten, tandis que les propriétés fermentatives sont définies par la quantité et la qualité des sucres et des enzymes. Si les lieux et les modes de culture, de récolte et de stockage conditionnent pour beaucoup cette deuxième notion, la force boulangère, au contraire, est, en grande partie, sous la dépendance du génotype de la plante. Ses valeurs différentes au sein des cultivars commercialisés sont l'expression de la variabilité génétique (ROUSSET et AUTRAN, 1979).

Il y a en France, deux problèmes auxquels la boulangerie doit faire front : l'inscription, au "catalogue des variétés", de blés à hauts rendements impropres à la panification, l'insuffisance de la production en blés de force susceptibles de compenser des irrégularités de qualité des variétés panifiables classiques.

Afin de fournir des variétés de bonne qualité, il faut donc que la sélection puisse disposer de méthodes d'appréciation de la qualité utilisables dès les premières étapes et sur de petites quantités de matériel (de l'ordre d'un demi-grain).

L'étude des protéines du gluten (gliadines et gluténines) dont l'expression est dépendante du génotype et qui sont responsables de la valeur boulangère peut répondre à cette nécessité.

Schématiquement, les gliadines sont impliquées dans les propriétés de viscosité et d'extensibilité des pâtes boulangères. Leur analyse par électrophorèse a montré un important polymorphisme variétal et permis, pour les cultivars français, des identifications et contrôles variétaux (AUTRAN, 1975). Des possibilités de corrélations entre la présence de certaines bandes et la valeur boulangère, semblent se préciser actuellement (BRANLARD, 1979). La complexité des électrophorégrammes des gliadines rend toutefois difficile la mise en évidence de celles-ci et nuit à son application.



Les gluténines, quant à elles, sont considérées par de nombreux auteurs (BIETZ et al., 1973 ; GUEGUEN et al., 1974 ; WALL, 1979) comme la classe de protéines directement responsable de la force des pâtes boulangères. On leur attribue les propriétés de ténacité et d'élasticité. Cependant, jusqu'à présent, les recherches sur les gluténines des cultivars français, sont encore réduites. Les relations entre leur diagramme électrophorétique et la valeur boulangère sont encore inexplorées.

Nous avons réalisé une étude systématique de cette dernière classe de protéine, chez des cultivars de qualité boulangère très différente, et suivi la transmission héréditaire des sous-unités de gluténine. Cette étude succède à des observations en microscopie électronique à balayage et à des dosages de groupements soufrés.

HISTORIQUE

1) LES GLUTENINES

La classification des protéines du grain de blé, établie sur la base des travaux d'Osborne, permet de distinguer, en fonction du caractère de solubilité :

- les protéines solubles dans les solutions salines :

- . les albumines : solubles également dans l'eau
- . les globulines : solubles dans NaCl 0,5 M

- les protéines insolubles dans les solutions salines :

- . les gliadines : solubles dans l'éthanol à 70 %
- . les gluténines : insolubles dans l'éthanol à 70 %

Gliadines et gluténines sont les composants majeurs du gluten (JONES et al., 1963).

Plusieurs mises au point sur les propriétés principales des gluténines ont déjà été faites (BIETZ et al., 1973 ; GUEGUEN et al., 1974 ; BUSHUK, 1976 ; WALL, 1979). Nous considérerons, plus particulièrement, certains aspects spécifiques à cette classe de protéine.

A) ISOLEMENT DES GLUTENINES

1) Extraction

Selon GUEGUEN et al. (1974), deux méthodes permettent l'isolement des gluténines :

- extractions successives des autres protéines par des solvants salins et organiques, le résidu final étant assimilé aux gluténines.

- solubilisation des protéines totales dans des solvants de type dénaturant, les gluténines étant ensuite isolées par tamisage moléculaire ou différence de solubilité.

Le choix de la méthode est important dans la mesure où il influence la composition des gluténines (BIETZ et WALL, 1975 ; STACHELBERGER, 1978a et b).

La première méthode entraîne souvent la contamination des gluténines par d'autres protéines (ORTH et BUSHUK, 1973a) ou par des composés insolubles (GUEGUEN et al., 1974) et nécessite une purification supplémentaire (BIETZ et WALL, 1975).

Souvent, les chercheurs ont fait usage d'acide acétique dilué pour solubiliser les protéines de la farine (JONES et al., 1963 ; MEREDITH et WREN, 1966 ; TSEN, 1967 ; DANNO et al., 1974). Mais, l'emploi de ce solvant s'accompagne de la formation d'un résidu gélatineux qui emprisonne des gluténines (MECHAM et al., 1962 ; MECHAM et al., 1963 ; CLUSKEY et DIMLER, 1967 ; INAMINE et al., 1967 ; COLE et al., 1973 ; O'BRIEN et ORTH, 1977). Leur extraction peut, ultérieurement, nécessiter l'utilisation de solvants dénaturants à base de chlorure de mercure (MECHAM et al., 1972, COLE et al., 1972, BIETZ et WALL, 1975, COLE et al., 1976) ou d'agents réducteurs des ponts disulfures (HUEBNER et ROTHFUS, 1971, BIETZ et WALL, 1975) ainsi que de dispersants tels que le diméthylamino-éthanol (0,1 M) ou le chloro-2-éthanol à 70 % dans l'acide chlorhydrique (TSOEGEL, 1961 ; CLUSKEY et DIMLER, 1967 ; INAMINE et al., 1967).

Certains auteurs utilisent les solvants dénaturants directement sur la farine ou le gluten isolé. JANKIEWICZ et POMERANZ (1965) prétendent solubiliser de façon pratiquement complète les protéines de la farine par l'urée 3 M, ce qui n'est pas confirmé par MEREDITH et WREN (1966), SHEARER et al., (1975). L'addition d'acide acétique 0.1 M n'améliore pas l'extraction (SHEARER et al., 1975) alors que le solvant A.U.C. (Acide acétique 0,1 M ; Urée 3 M ; bromure de triméthylammonium 0.01 M) semble plus efficace (MEREDITH et WREN, 1966 ; ORTH et BUSHUK, 1973a) mais cette opinion ne semble pas générale (DANNO et al., 1974 ; SHEARER et al., 1975 ; PAYNE et CORFIELD, 1979). On peut remplacer le CTAB par le Tween 80 (MEREDITH et WREN, 1966) ou le Brij 35 (ORTH et BUSHUK, 1973a) mais le taux d'extraction diminue. Le SDS donne des résultats variables selon les conditions d'utilisation (ORTH et BUSHUK, 1973a ; DANNO et al., 1974).

2) Séparation

Les gluténines peuvent ensuite être séparées par tamisage moléculaire sur Sephadex G 75 (JONES et al., 1963), G 100 (HUEBNER et ROTHFUS, 1971 ; ORTH et BUSHUK, 1973a; ORTH et al., 1973a; HAMAUZU et al., 1975 ; ARAKAWA et YONEZAWA, 1975 ; SHEARER et al., 1975) G 150 (BUSHUK et WRIGLEY, 1971 ; TANAKA et BUSHUK, 1973a, G 200 (MEREDITH et WREN, 1966 ; HUEBNER et WALL, 1974), gel d'agarose 3 % (INAMINE et al., 1967), Sepharose 2 B (HUEBNER et WALL, 1976), Sepharose 4 B (HUEBNER et WALL, 1976), Sepharose CL 4 B (PAYNE et CORFIELD, 1979 ; HUEBNER et WALL, 1980), sur CPG 10-500 (DANNO et al., 1974), par chromatographie sur gel de polyacrylamide (CROW et ROTHFUS, 1968), ou par précipitation suivie éventuellement d'une purification par le SE-Sephadex C-50 (ORTH et BUSHUK, 1973a; WASIK et BUSHUK, 1974 ; BIETZ et WALL, 1975).

Une méthode d'extraction des gluténines, applicable à l'analyse de faibles quantités de matériel (1/2 grain), a été mise au point par BIETZ et al. (1975) et évite la solubilisation des protéines totales ; elle comprend une précipitation sélective des gluténines par ajustement du pH entre 6.6. et 8.0.

+ +
+

Les gluténines restent, à l'heure actuelle, la classe de protéines la plus difficile à solubiliser et à purifier (BIETZ et WALL, 1975, GUEGUEN et al., 1974).

B) QUELQUES CARACTERISTIQUES MOLECULAIRES

1) Poids moléculaire

Les gluténines sont caractérisées par leur grand pouvoir d'agrégation. Ce sont des molécules de tailles variables, de poids moléculaire élevé, dont la détermination reste fonction de la méthode utilisée (WALL, 1979).

Selon JONES et al. (1963), la séparation sur Sephadex G 75 des protéines du gluten (solvant:acide acétique 0.05 M) donne deux fractions de gluténines dont le poids moléculaire, déterminé par ultracentrifugation analytique (tampon lactate d'aluminium, acide lactique pH 3) est de l'ordre de 2 à 3 millions. La détermination par tamisage moléculaire du poids moléculaire des gluténines est devenue possible grâce aux gels d'agarose, Sepharose 2 B et 4 B (HUEBNER et WALL, 1976), CL 2 B et CL 4 B (PAYNE et CORFIELD, 1979 ; HUEBNER et WALL, 1980, PAYNE et al., 1980a). Les résultats obtenus indiquent une gamme de poids moléculaires comprise entre 100 000 et 10 millions.

2) Les sous-unités de gluténine

La baisse brutale de viscosité et la diminution de poids moléculaire (PENCE et OLCOTT, 1952 ; EWART, 1968) des gluténines traitées par un agent réducteur tel que le 2-mercapto-éthanol indiquent la présence de chaînes polypeptidiques reliées entre elles par des ponts disulfures (NIELSEN et al., 1962).

Après réduction, les gluténines se prêtent bien à une analyse électrophorétique. En gel d'amidon (tampon lactate d'aluminium pH 3,1), on peut mettre en évidence une vingtaine de bandes. Certaines d'entre elles présentent la même mobilité que des gliadines (WOYCHIK et al., 1964), qui peuvent rester emprisonnées au sein du réseau des gluténines malgré les précautions prises au cours de l'extraction (ELTON et EWART 1966). Comme pour les gliadines (WOYCHIK et al., 1964), on peut distinguer plusieurs zones dans les électrophorogrammes des gluténines réduites. Elles sont désignées par ordre de mobilité décroissante α , β et δ (CROW et ROTHKUS 1968), chacune comprenant deux bandes principales (HUEBNER 1970).

Selon AURIAU et al. (1976), les gluténines réduites de blé tendre se répartissent en deux groupes ; le premier comprend une vingtaine de constituants de mobilité comparable à celle des gliadines β , γ et ω le deuxième est formé de six constituants, faiblement concentrés, dont la mobilité est analogue à celle des albumines.

Les cyano éthyl-gluténines (cyanoéthylation successive à la réduction) peuvent être séparées sur Biogel P 300, en présence d'urée 8 M, en 3 fractions. L'une correspond aux éléments de faible mobilité, dont la résolution est faible, la deuxième (PM 100 000) est riche en tous les composants classiques, enfin, la troisième (PM 40 000) est pauvre en bandes γ mais riche en gluténines α (CROW et ROTHFUS, 1968).

Les études par immunoélectrophorèse entreprises par ESCRIBANO et GRABAR (1966) font état, au sein des gluténines, de polymères de constituants présents chez les gliadines. Toutefois, les résultats obtenus doivent être considérés avec prudence (GUEGUEN et al. 1974).

La similitude des charges portées par les sous-unités gluténiques ne permet que la séparation de huit bandes protéiques par isoélectrofocalisation (MITA et YONEZAWA, 1971).

Sans nul doute, les méthodes d'électrophorèse en présence de dodécyl sulfate de sodium ("SDS-PAGE") ont, jusqu'à présent, le plus contribué à l'avancement des connaissances sur les gluténines. Ayant pour principe l'annulation de l'effet des charges portées par les molécules protéiques, elle permet la séparation des chaînes polypeptidiques selon leur poids moléculaire (SHAPIRO et al., 1967 ; WEBER et OSBORN, 1969 ; DUNKER et RUECKERT, 1969). Les sous-unités sont analysées par "SDS-PAGE" après isolement des gluténines par extractions séquentielles des protéines du grain (BIETZ et WALL, 1972 ; BIETZ et al., 1973 ; ORTH et BUSHUK, 1973a) ou extraction unique avec le solvant A.U.C. (STACHELBERGER, 1977a) complétée éventuellement par un tamisage moléculaire sur Sépharose 4 B (HUEBNER et WALL, 1976) ou Sépharose CL 4 B (PAYNE et CORFIELD, 1979 ; HUEBNER et WALL 1980 ; PAYNE et al., 1980a). La délipidation (STACHELBERGER, 1977a), la méthode d'extraction (BIETZ et WALL, 1975), le protocole d'électrophorèse, le pH du tampon de migration (KHAN et BUSHUK, 1977) ont une influence sur l'électrophorégramme obtenu.

Les auteurs s'accordent pour détecter chez les gluténines la présence de bandes à poids moléculaire plus élevé que celle des composants gliadines. Un minimum de 15 bandes est révélé d'après BIETZ et WALL (1972) (Tampon d'électrophorèse Tris-borate pH 8,9) dont les poids moléculaires varient entre 11600 et 133000. Mais, dernièrement, PAYNE et al. (1980 a et b) ont mis en évidence dans des variétés diverses 12 sous-unités différentes à haut PM, supérieur à 95000 (Figure 1).

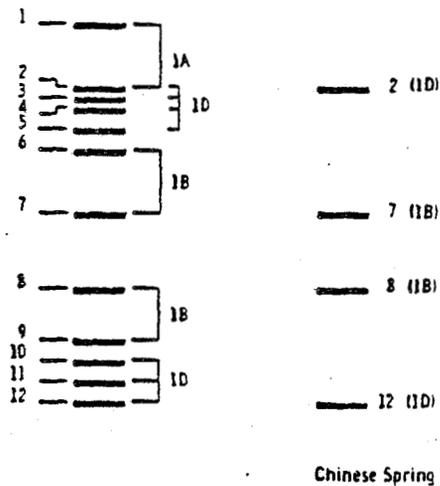


Fig. 1 : Ensemble des sous-unités de gluténine différentes et à PM supérieur à 95000 détectées dans les variétés Bersée, Cappelle-Desprez, Cheyenne, Hobbit sib, Holdfast et Spica. A titre de comparaison, est indiquée la composition de Chinese-Spring. Le PM de la sous-unité 1 est de 145000, celui de la sous-unité 12 est de 95000 (D'après PAYNE et al., 1980b).

Les légères différences de poids moléculaire trouvées pour les sous-unités les plus lourdes par ORTH et BUSHUK (1973b et c) peuvent s'expliquer par l'emploi d'un tampon d'électrophorèse à pH différent (Tampon phosphate pH 7,3) (KHAN et BUSHUK, 1977). L'électrophorèse -SDS donnant par ailleurs des valeurs supérieures à celles obtenues par équilibre de sédimentation (HAMAUZU et al., 1975).

L'analogie de poids moléculaire entre certaines sous-unités (sous-unités 9 et 11, PM = 44600 et 36000 ; BIETZ et WALL, 1972), ou certaines fractions séparées sur Séphadex G 200 (PM = 37000 à 45000, HUEBNER et WALL, 1974) et des composants gliadines serait due à la présence de ces derniers dans la structure des gluténines (STACHELBERGER, 1977a). 62 % des sous-unités de gluténine (PM 40000) sont solubles comme les gliadines dans l'éthanol à 70 % ; leur composition en acides aminés est comparable à celle des gliadines de haut poids moléculaire (BECKWITH et al., 1966 ; BIETZ et WALL, 1973). Par contre, les sous-unités insolubles dans ce solvant ont un poids moléculaire hétérogène, constituées principalement d'éléments de taille importante et composées d'acides aminés différents.

L'utilisation de gels d'agarose permet à HUEBNER et WALL (1976) de séparer les gluténines de haut PM en "gluténine I" (PM supérieur à 5 millions) et "gluténine II" (PM compris entre 200000 et 5 millions). Les deux fractions, d'après ces auteurs, ont la même composition en sous-unités.

Mais, selon PAYNE et CORFIELD (1979), la proportion des sous-unités les plus lourdes est supérieure dans "la gluténine I", ce qui peut expliquer les différences de poids moléculaires des diverses fractions de gluténine. Notons que, récemment, HUEBNER et WALL (1980), arrivent aux mêmes conclusions.

C) GLUTENINES ET VALEUR BOULANGERE

Selon un schéma simplifié, les gliadines sont considérées comme responsables des propriétés de viscosité des pâtes boulangères, tandis que la ténacité et l'élasticité de ces pâtes sont surtout caractérisées par la nature des gluténines (EWART, 1968 ; WRIGLEY, 1972 ; EWART, 1978 ; WALL, 1979 ; ROUSSET et AUTRAN, 1979 ; HUEBNER et WALL, 1980).

BIETZ et al. (1973) n'hésitent pas à qualifier les gluténines de protéine de la force boulangère, illustrant ainsi son rôle sur les propriétés fonctionnelles du gluten et des pâtes. A la limite, en teneur trop importante, elles peuvent nuire au développement des alvéoles gazeuses formées au cours de la fermentation des pâtes boulangères.

SHOGREN et al. (1969), après avoir séparé gliadines et gluténines, puis ajouté l'une ou l'autre des fractions à la pâte résiduelle, montrent le rôle bénéfique des gliadines sur le volume du pain et celui des gluténines sur le comportement de la pâte lors du pétrissage (temps de pétrissage, résistance). D'autre part, l'addition de gluténine à haut PM améliore la force boulangère des farines faibles (MAC RITCHIE, 1975), ce qui confirme le rôle favorable de la fraction des gluténines de haut PM, insoluble dans l'acide acétique (CLUSKEY et DIMLER, 1967 ; COLE et al., 1973 ; LEGOUAR et al., 1979).

KANAZAWA et YONEZAWA (1974) séparent des gluténines une fraction qui précipite en présence d'acide acétique 0,01 M et qui se caractérise par la présence de composants ayant des propriétés agrégatives très importantes (faible contenu en acide glutamique et proline ; haute teneur en acides aminés basiques). La proportion de ces composants au sein des gluténines serait de 8 % ils pourraient contribuer à l'association des molécules de gluténine, et influencer les propriétés rhéologiques des pâtes. Par la suite, grâce à une méthode spectrophotométrique mettant en relation les modifications de turbidité d'une suspension de gluten et les propriétés agrégatives, ARAKAWA et al. (1974) montrent que ces dernières varient en fonction du type de farine et augmentent avec la force de la farine. Le rôle de la nature des gluténines est clairement mis en évidence lorsque ARAKAWA et al. (1976) séparent et analysent des fractions protéiques diverses et montrent une corrélation entre les propriétés du gluten et celles des gluténines, corrélation qui n'existe pas avec les gliadines.

En séparant les sous-unités gluténiques par tamisage moléculaire, ARAKAWA et al. (1977) démontrent le rôle des sous-unités de HPM et suggèrent que des différences quantitatives et qualitatives des sous-unités gluténiques peuvent déterminer les propriétés des gluténines chez des blés de qualité différente.

Cependant, les analyses des sous-unités gluténiques tant par électrophorèse sur gel d'amidon (HUEBNER, 1970) que par "SDS - PAGE" (BIETZ et WALL, 1972 ; ORTH et BUSHUK, 1973b; BIETZ et al., 1975) n'ont pas prouvé l'existence de relation nette entre le nombre de sous-unités de gluténine de HPM (ORTH et BUSHUK, 1973b), un type particulier d'électrophorégramme (BIETZ et WALL, 1972 ; BIETZ et al., 1975) et la valeur boulangère. Ces auteurs se sont bornés à signaler la disparition de sous-unités de HPM, en relation avec l'absence du génome D et la réduction de la valeur boulangère (ORTH et BUSHUK, 1973c). Cependant, au sein d'une population d'hybrides à parenté étroite, la présence de certaines sous-unités à HPM est en relation avec la valeur boulangère des lignées obtenues (PAYNE et al., 1979, 1980a, 1981). De plus, la proportion des sous-unités de grande taille est supérieure dans la fraction des gluténines les plus lourdes (PAYNE et CORFIELD, 1979 ; HUEBNER et WALL, 1980) dont l'importance est en liaison avec la force boulangère (HUEBNER et WALL, 1976).

KOBREHEL (1979) a étudié la solubilité des protéines de la farine en présence de quantités croissantes de savon. Les électrophorèses en milieu SDS indiquent que les sous-unités de poids moléculaire supérieur à 90000 (sans préciser la classe de protéine à laquelle elles appartiennent) se solubilisent en présence de plus faibles quantités de savon dans les variétés de faible valeur boulangère.

Les qualités d'élasticité des gluténines s'expliquent par la présence de chaînes polypeptidiques capables de changer de forme et de s'allonger considérablement. Cet allongement n'est pas généré par des forces inter ou intra-moléculaires trop grandes en raison des réactions d'échanges existant entre les ponts disulfures en milieu humide. Ces mêmes liaisons assurent la cohésion et la continuité de la structure gluténique (EWART, 1972 ; GUEGUEN et al., 1974).

Enfin, la présence de groupements -SH, la position de la cystéine et des liaisons disulfures intercaténaïres fonctionnelles au sein des gluténines (EWART, 1968 ; MAC RITHCHIE, 1975 ; EWART, 1978) semblent indissociables du rôle des gluténines et des protéines du gluten dans la formation du réseau protéique (BLOKSMA, 1972)

11) ELEMENTS DE GENETIQUE

A) CONTROLE GENETIQUE DE LA VALEUR BOULANGERE

DHALIWAL (1977) rapporte que la qualité boulangère des grains hybrides F1 est comparable à celle du parent femelle, tandis que la qualité meunière est sous le contrôle du génotype de l'albumen. D'autre part, la compacité des molécules contenues dans certaines fractions protéiques (riches en gluténines de HPM) est influencée de façon significative par le parent femelle (FILUTOWICZ, et al., 1978).

Les lignées de substitution chromosomique de la variété Chinese Spring par Cheyenne indiquent que la force boulangère dépend de gènes situés sur les chromosomes 4B, 7B, 5D. Le rôle des chromosomes 1B, 4B, 7B, et éventuellement, 1A, est important pour le volume du pain, l'apparence de la croûte ainsi que la texture de la mie. Une baisse générale de la qualité s'observe dans la lignée de substitution 1D MORRIS et al., 1968).

WELSH et al. (1968) testent trois lignées de substitution de Chinese Spring par Thatcher, Hope, Tinstein. Dans la première lignée, seule l'influence du chromosome 2A se traduit par une augmentation de l'absorption d'eau lors du pétrissage, et du volume du pain. Dans la lignée issue de la variété Hope, le chromosome 2B favorise la stabilité de la pâte, le chromosome 5D, l'absorption d'eau, les chromosomes 2B et 3A, le volume. Enfin, dans le dernier cas, l'absorption d'eau est accrue dans les lignées 3B et 5D ; l'aptitude au pétrissage dans les lignées 1B, 3B, et 6B est supérieure, ainsi que le volume du pain fabriqué avec la farine extraite de la lignée 3B.

DOEKES et BELDEROK (1976) ont, pour leur part, analysé 4 lignées de substitution de Cappelle-Desprez, Cheyenne, Hope et Timstein (variétés de qualité satisfaisante) dans Chinese Spring. En éliminant la possibilité d'une suppression d'un effet répresseur, les auteurs constatent que : la stabilité de la pâte est accrue dans les lignées de substitution Cappelle-D. et Cheyenne 1A, Hope 3B et Timstein 2D ; le volume des pains est généralement supérieur avec toutes les lignées de substitution ; les gènes contrôlant la valeur boulangère semblent localisés sur les chromosomes 1A et 3B chez Cappelle-D et 2D chez Timstein. De plus, ces résultats indiquent que les gènes déterminant l'aptitude au pétrissage sont situés sur des chromosomes différents de ceux interve-

nant sur la dureté du grain ou l'absorption d'eau au pétrissage.

BUSCH et MAAN (1978) ont étudié trois lignées alloplasmiques interspécifiques de deux cultivars de blé hexaploïde afin de déterminer l'effet du cytoplasme sur certaines caractéristiques de la valeur boulangère. Les cytoplasmes de Triticum macha, T. dicoccoides et Aegilops squarrosa ne paraissent pas modifier notablement le taux de protéine, le rendement en farine, les volumes des pains obtenus à partir des farines des grains de ces lignées.

Il faut noter que, pour MAC-NEAL et al. (1968), les grains F2 présentent généralement des valeurs boulangères intermédiaires de celles des parents ; elles ne dépassent jamais, de façon significative, la qualité du meilleur parent. Parfois, certains géniteurs ont un effet défavorable sur la qualité de la descendance.

B) CONTROLE GENETIQUE DE LA TENEUR EN PROTEINES DU GRAIN

En sélection, l'obtention de blés riches en protéines s'avère difficile, car, cette caractéristique, contrôlée génétiquement (CHAPMAN et MACNEAL, 1970 ; VOGEL et al., 1978), est étroitement liée aux conditions de culture (JOHNSON et al., 1963 ; HADJICHRISTODOULOU et DELLA, 1978). De plus, teneurs en protéines élevées et rendements moindres vont souvent de paire, même si des sélections bien conduites à partir de parents riches en protéines, permettent la création de blés alliant, dans une certaine mesure, ces deux qualités (MAC NEAL et al., 1972). La présence chez les variétés parentales de gènes distincts contrôlant la richesse en protéine et doués d'effets cumulatifs peut être particulièrement intéressante (VOGEL et al., 1978).

Chez les hybrides F1, la teneur en protéines est sous la dépendance du génotype du parent femelle plus que sous celui de son propre génotype (SINGH et NANDA, 1976). Ceci doit justifier un choix rigoureux du parent femelle pour le croisement (FILUTOWICZ et al., 1978) Son importance s'explique par la limitation de la taille de la graine hybride portée par le parent femelle, un défaut d'expression du génotype

mâle ou l'action de facteurs cytoplasmiques semblant exclus (DHALIWAL, 1977).

Au stade de la F₂ et de la F₃, l'influence du sens du croisement semble disparaître.

Le fait que le taux de protéines dépende des conditions de culture est un obstacle dans la localisation des gènes contrôlant les quantités de protéines.

Cependant, les hybrides F₂ obtenus par croisement entre les lignées monosomiques de Cappelle-D. et la variété Luna (mis à part la lignée monosomique 7 B) ont une teneur en protéines supérieure (TARKOWSKI et OTLOWSKA-MIAZGA, 1976). Sans négliger les phénomènes classiques d'échaudage et les perturbations des synthèses d'amidon rencontrées fréquemment chez ces lignées, les auteurs estiment que chez Luna, des gènes situés sur les chromosomes 1D, 2D, 2A, 4B, 5D, 5A, 6A, 6B, 6D, 4A et 2B stimulent significativement les synthèses protéiques. Comme ces gènes se manifestent en l'absence du chromosome homologue de la lignée monosomique de Cappelle-D., ils sont de nature récessive. DOEKES et BELDEROK (1976) mentionnent, dans des lignées de substitution de Chinese Spring par Cappelle D, des teneurs en protéines plus grandes pour la lignée 5D ; mais ce phénomène est attribué à l'influence des conditions de culture.

C) GENETIQUE DES PROTEINES DE RESERVE

1) Chez différentes espèces

Les techniques d'électrophorèse apparaissent comme un outil efficace pour les analyses qualitatives et quantitatives de la transmission génétique des protéines de réserve. Elles soulignent souvent l'influence du sens du croisement sur la composition en protéine des graines F₁.

Ainsi, l'étude de l'héritabilité des avénines (prolamines de l'avoine) (KIM et al., 1979) indique que les grains F₁, obtenus par croisement réciproque, possèdent toutes les "bandes protéiques parentales", la quantité de chaque composant étant sensiblement proportionnelle au nombre de copies présentes du gène de structure correspondant. A des stades de croisement plus poussés, 50 % des descendants F₄, F₅ et F₆ étudiés montrent un diagramme électrophorétique identique à celui de

l'un des parents tandis que des disjonctions entre les diagrammes parentaux peuvent intervenir de façon partielle. Une complète additivité des "bandes parentales" caractérise aussi quelques hybrides. L'apparition de bandes qui n'existaient pas chez les parents peut se produire, vraisemblablement sous le jeu d'un processus de dérèpression.

Les études de même nature entreprises sur les hordéines (prolamines de l'orge) confirment l'expression des deux génomes parentaux et les différences de synthèse protéique observées montrent l'influence du sens du croisement au sein de l'hybride F1 (SHEWRY et al., 1978). Il en est de même pour les globulines G1, protéines de réserve majeures de Phaseolus vulgaris L. (HALL et al., 1977). Toutefois, les protéines parentales sont présentes en quantité identique, quel que soit le sens du croisement, en raison de la diploïdie des cotylédons. Par contre, d'après VOLODIN et al. (1978), chez le pois et la vesce suivant le sens du croisement, on constate au sein de ces tissus diploïdes la prédominance des caractères hérités d'un des deux parents.

ORAM et al. (1975) établissent que ce sont des allèles codominants et liés (SHEWRY et al., 1978) qui contrôlent les synthèses des hordéines. Les globulines G1 chez Phaseolus vulgaris (HALL et al., 1977) sont également sous le contrôle de gènes codominants (Figure 2).

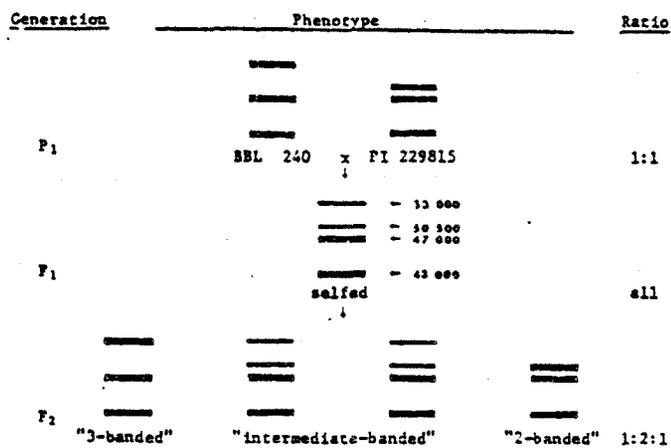


Figure 2 : Modèle montrant la codominance des allèles codant deux polypeptides des globulines G1 de la graine de Phaseolus vulgaris, séparés électrophorétiquement. P₁ : graines parentales ; F₁ et F₂ : graines de 1ère et 2e génération (D'après HALL et al., 1977).

L'existence de modèles de transmission génétique plus complexes est démontrée pour trois protéines à mobilité électrophorétique différente chez la pomme de terre par RICKEMAN et DESBOROUGH (1978).

Selon ces auteurs, la synthèse d'une protéine peut être réalisée par :

- a- un gène unique dominant
- b- deux gènes ségrégeant indépendamment, dont l'un au moins possède un allèle dominant
- c- deux gènes complémentaires à ségrégation indépendante, et possédant chacun au moins un allèle dominant.

2) Chez le blé

a) Généralités

BERNACKA et al. (1977) séparent les diverses fractions des protéines de la farine de froment par solubilisations successives dans un tampon pyrophosphate (pH 7,0), dans l'acide acétique 0,05 M, et enfin, dans la soude 0.1 M. Ils montrent que les proportions relatives des différentes fractions trouvées chez les parents, s'héritent en F1, la forme femelle ayant une plus grande influence.

SALCEDO et al. (1978) se sont intéressés à deux protéines hydrophobes de l'endosperme, CM3 et CM3', qui sont codées par des allèles situés en un locus et désignés respectivement CM3a et CM3b. A partir de l'étude d'hybrides issus de croisements réciproques entre deux Triticum turgidum porteurs de l'allèle codant l'une ou l'autre de ces protéines, ils démontrent que leurs synthèses ne sont pas égales, ce qui suggère des expressions alléliques différentes. Cette caractéristique se retrouve à la fois lorsque l'allèle CM3b est présent à l'état hétérozygote ou homozygote. Deux hypothèses peuvent expliquer ce phénomène :

- soit l'existence de différences dans les gènes de structure
- soit la présence de gènes régulateurs ou modificateurs vraisemblablement liés au gène de structure, vu la parfaite transmission du caractère dans la descendance.

Par l'étude de lignées nulli-tétrasoniques, ARAGONCILLO et al. (1978) mettent en évidence que, dans certaines lignées, la synthèse d'une

protéine peut être sous le seul contrôle du nombre de gènes de structure présents ; par contre, dans d'autres cas, les synthèses sont supérieures en l'absence du chromosome portant le gène qui synthétise la protéine homéologue.

Enfin, certains croisements interspécifiques se caractérisent par l'absence de protéines paternelles dans les hybrides F1, suggérant un processus de répression génétique ; les synthèses protéiques majeures sont, dans ces conditions, essentiellement sous le contrôle du génotype du parent femelle (DHALIWAL, 1977).

b) génétique des gliadines

Les connaissances relatives au déterminisme génétique des gliadines demeurent encore limitées. Les études du contrôle génétique de la synthèse des gliadines sont basées sur l'analyse de la transmission de ses divers constituants, séparés électrophorétiquement, dans les hybrides F1, F2 et, parfois, F3 obtenus par croisements de variétés à électrophorogramme différent.

Chaque gliadine est codée, semble-t'il, par un gène unique dominant. En effet, tout composant présent chez un seul des parents existe chez l'hybride F1 ; l'intensité de sa coloration (proportionnelle à la quantité de protéines) dépend du sens du croisement, c'est dire qu'elle est fonction du nombre de gènes de structure présents, en liaison avec la nature triploïde de l'albumen (MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979). De même, il est présent dans la proportion de 75 % dans les populations F2 (MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979).

Il existe des classes de composants, se succédant sur l'électrophorogramme (DOEKES, 1973) ou se dispersant (SOZINOV et al., 1974 ; AUTRAN, 1979), au sein desquels aucune recombinaison n'est trouvée. Leur synthèse est déterminée par des groupes de gènes étroitement liés (MECHAM et al., 1978), dont le déterminisme génétique serait de type codominant (BAKER et BUSHUK, 1978 ; MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979).

Fait intéressant, chez les blés tétraploïdes, dès la F2, la présence des bandes 45 ou 42 (en relation avec les propriétés visco-élastiques du gluten) est un caractère fixé pour 50 % des individus.

Ces protéines sont, vraisemblablement, codées par deux allèles d'un même gène, à hérédités codominantes (DAMIDAUX et al., 1978 ; AUTRAN, 1979 ; DAMIDAUX, 1979).

La grande hétérogénéité des gliadines (une vingtaine de constituants séparés par électrophorèse en gel d'amidon ; quarante à cinquante par techniques bidimensionnelles) illustre la complexité des travaux qui ont tenté d'établir la localisation chromosomique des gènes responsables de leur synthèse. S'appuyant généralement sur l'analyse de lignées aneuploïdes de Chinese-spring, les chercheurs ont montré l'importance des chromosomes des groupes homéologues 1 et 6 (BOYD et al., 1969 ; SHEPHERD, 1968 ; KASARDA et al., 1976 ; SASEK et FOSNER, 1977, MECHAM et al., 1978).

Par contre, les gliadines à faible PM ($\bar{L} M W \bar{G}$) sont codées par des gènes à localisation différente : chromosomes 4B, 7A, et 7B chez "Chinese Spring" (SALCEDO et al., 1980).

La spécificité des diagrammes électrophorétiques des gliadines en fait, d'autre part, un instrument de l'analyse génétique de lignées d'addition (CAUDERON et al., 1978 ; BERNARD et al., 1977) et de sélection des mutants (SASEK et CERNY, 1977, 1978).

3) Génétique des gluténines

Les connaissances relatives au mode de contrôle génétique des gluténines restent parcellaires.

Les études réalisées jusqu'à présent ont surtout tenté d'élucider l'origine génétique des sous-unités gluténiques de haut PM. A notre connaissance, aucun travail ne porte sur l'étude précise de la transmission héréditaire des sous-unités gluténiques.

ORTH et BUSHUK (1973b) notent que l'influence du lieu de culture sur les synthèses des gluténines n'est pas décelable sur les électrophorégrammes -SDS des sous-unités. Ils en concluent que leurs synthèses sont sous la seule influence du génotype. AURIAU et al. (1976) montrent que divers traitements (fongicides précoces ou tardifs ; CCC

à la montée et apport d'azote au tallage) perturbent la synthèse des gluténines sans modifier celle des gliadines.

La suppression du génome D chez les blés hexaploïdes entraîne la disparition de trois sous-unités (PMs 152000, 112000 et 45000) et la moindre coloration d'une 4ème bande (PM 80000) (ORTH et BUSHUK, 1973c). De plus, la comparaison entre les variétés Canthatch (hexaploïde AABBDD), Tetracanthatch (tétraploïde AABB) et l'hybride résultant du croisement entre Tetracanthatch et Aegilops squarrosa (hexaploïde) indiquent que :

- les deux blés hexaploïdes possèdent sensiblement le même électrophorégramme

- l'absence du génome D (Tetracanthatch) se traduit par la disparition de trois bandes (PMs = 152000, 112000 ; 60000) et la diminution d'une troisième (PM = 45000).

Ces cinq sous-unités sont codées par le génome D apporté par Aegilops squarrosa.

L'addition d'une paire de chromosome 1D à un blé tétraploïde (lignée d'addition à 15 paires de chromosomes) se traduit par l'apparition de deux sous-unités gluténiques de HPM, caractéristiques des blés hexaploïdes (WALL, 1979). Il en est de même dans la lignée de substitution des blés durs N1BD1D (WALL, 1979).

La localisation chromosomique précise des gènes codant pour les sous-unités gluténiques a été étudiée par ORTH et BUSHUK (1974) puis BIETZ et al. (1975) qui analysent des séries aneuploïdes de la variété "Chinese Spring" obtenues par SEARS (1954) (lignées nullitétrasomiques et ditélocentriques et, à un degré moindre, nulli-trisomiques). La sous-unité de plus haut PM (152000 selon ORTH et BUSHUK 1974 ; 133000 selon BIETZ et al. (1976) est codée par un gène situé sur le long bras de chromosome 1D, de même que la sous-unité n° 4 (PM 112000, selon ORTH et BUSHUK, 1974, et 86000, selon BIETZ et al., 1976), ainsi que deux autres sous-unités (PMs = 60000 et 45000 (ORTH et BUSHUK, 1974). Deux sous-unités de HPM sont codées par le long

bras du chromosome 1B (PMs = 104000 et 93000) et une par un gène localisé sur le long bras du chromosome 4D (PM 68000) (BIETZ et al., 1975). ORTH et BUSHUK (1974) suggèrent que les synthèses des deux premières sous-unités peuvent être perturbées lorsque les chromosomes 2B 3B ou 6B sont à l'état tétrasomique (études des lignées N2DT2B, N3DT3B, N6DT6B). Mais BIETZ et al. (1975) attribuent ce phénomène à un défaut de l'extraction dû à une solubilité différente des protéines ou à une modification des propriétés aggrégatives lors de la triploïdisation de ces chromosomes.

Dernièrement, grâce à un système d'électrophorèse permettant une résolution excellente des sous-unités de HPM et par l'analyse de lignées de substitution intervariétales, PAYNE et al. (1980a et b) montrent que les 12 sous-unités de PM supérieur à 95000 détectées chez les 7 variétés étudiées sont codées par des gènes localisés sur les chromosomes homéologues du groupe 1. Des formes alléliques d'un même gène sont mises en évidence.

III) APPORTS DE LA MICROSCOPIE

L'importance alimentaire du blé à l'échelle mondiale a justifié l'étude des relations qui existent entre la structure et la composition des grains (voir pour revue : Mac MASTERS et al., 1971).

Afin d'expliquer ses propriétés physiques, de nombreuses études de microscopie optique des constituants de la farine et des pâtes ont été entreprises (FLINT et MOSS, 1970 ; MOSS, 1974). Dans le cas du blé, trois éléments semblent présenter un rôle particulièrement important : la nature des protéines, leur répartition au sein de la graine, ainsi que les inter-relations protéines-lipides, d'une part, et protéines-amidon, d'autre part.

A) LE GRAIN IMMATURE

JENNINGS et al. (1963) ont montré que les protéines de réserve du blé s'accumulent au cours de la maturation du grain, 12 à 40 jours après la floraison, dans des corpuscules particuliers ("protein bodies"). A la suite de travaux en microscopie électronique à transmission (M.E.T.) (BURR et al., 1978) il est établi que ces corpuscules, qui prennent sans doute naissance au sein du réticulum endoplasmique, sont entourés d'une membrane simple. Des ribosomes associés extérieurement aux corpuscules apparaissent comme les centres de synthèse des protéines de réserve (essentiellement des gliadines chez le blé, semble-t'il) (voir PERNOLLET 1979 pour revue).

A maturité, les "protein bodies" ne sont plus discernables au sein de l'albumen où l'amidon prédomine.

En cours de maturation, seules des différences mineures de la composition en gluténine sont enregistrées (KHAN et BUSHUK, 1976).

Dans l'albumen mûre, deux structures protéiques morphologiquement distinctes sont visibles au microscope ; la première constitue une matrice qui s'insère parmi les granules d'amidon (protéine intersticielle), tandis que la deuxième s'associe plus étroitement à leur surface (protéine adhérente) (HESS, 1961).

ARANYI et HAWRYLEWICZ (1969) confirment ces observations en microscopie électronique à balayage (M.E.B.) et attribuent aux protéines adhérentes une importance rhéologique lors de la formation de la pâte boulangère (ARANYI et HAWRYLEWICZ, 1968). Dans les variétés pauvres en protéines, il y a

réduction de la matrice protéique (KOCON et al., 1978).

Des résidus des membranes du réticulum endoplasmique et de divers organites cellulaires sont détectés en M.E.T. dans l'albumen, sous forme d'inclusions osmiophiles (SIMMONDS, 1972a). En raison de leur nature chimique, ils pourraient constituer, selon cet auteur, une source de lipides libres ou liés, ou de protéines à HPM.

B) LES PATES BOULANGERES, EFFET DU PETRISSAGE

Une simple humidification de la farine de froment met en évidence des fibrilles protéiques élastiques (diamètre : 100 à 600 Å) qui s'organisent en un réseau tridimensionnel (BERNARDIN et KASARDA, 1973). Chez le blé et les autres céréales panifiables (seigle, triticales), elles sont à la base des propriétés des pâtes boulangères. Dans une pâte, on peut distinguer trois éléments principaux (POMERANZ, 1971) :

- des lamelles protéiques formant un réseau continu,
- de l'amidon enfermé dans le réseau protéique,
- des alvéoles gazeuses, formées entre les mailles du réseau gluténique.

La répartition des composants de la farine au sein d'une pâte pétrie est bien visible en M.E.B. et M.E.T. La matrice protéique fait place à une structure en maille (le réseau gluténique) qui enveloppe, çà et là, les grains d'amidon (ARANYI et HAWRYLEWICZ, 1968, CUMMING et TUNG, 1975) répartis de façon uniforme (ARANYI et HAWRYLEWICZ, 1969). Ceux-ci constitueraient les points de fixation des fibrilles ou des lamelles protéiques (CUMMING et TUNG, 1977). L'absence d'amidon, dans le gluten isolé, entraîne la disparition des mailles protéiques et aboutit à la formation d'une masse "amorphe" (CUMMING et TUNG, 1975).

MOSS (1974) constate, en microscopie optique, qu'au réseau fibrillaire continu, fin et délicat, qui caractérise une pâte bien développée, succède un réseau réticulé dense, de type "fermé", témoin d'une masse surpétrie et collante.

De nombreuses inclusions osmiophiles (visibles en M.E.T.) sont insérées au coeur du réseau protéique (SIMMONDS, 1972b). Les unes, intensément colorées, aux contours irréguliers (épaisseur : environ

1 à 3 μm), sont de nature lipoprotéique et proviennent des résidus membranaires déjà visibles dans l'albumen (SIMMONDS, 1972a). Les autres, sous forme de gouttelettes (diamètre 1 à 3 μm), constituent des lipides libres; facilement éliminés par l'éther de pétrole (SIMMONDS, 1972b, CUMMING et TUNG, 1975), ils proviendraient des lipides constitutifs des membranes résiduelles (SIMMONDS, 1972a), ou du germe et de l'aleurone (SECKINGER et WOLF, 1967). Libérés au cours du pétrissage, ils peuvent se combiner à certaines protéines et forment un complexe caractérisé par son insolubilité dans l'urée 4 M (SIMMONDS, 1972b).

C) LES FRACTIONS PROTEIQUES ISOLEES

Les observations en M.E. des fractions isolées confirment les différences structurales entre les classes de protéines dans leur ensemble, et révèlent le caractère hétérogène des gluténines et l'aspect généralement plus homogène des gliadines.

1) Les gluténines

ORTH et al. (1973a) ont analysé en M.E.B. les fractions, obtenues après tamisage moléculaire sur Sephadex G 100, d'un extrait protéique de farine solubilisé dans un tampon de type dénaturant (le tampon A.U.C.). La fraction éluée en premier correspond à des gluténines de HPM; elle présente un aspect très hétérogène où coexistent des particules en forme de disques (diamètre 5 μm) et des fibres protéiques.

SIMMONDS (1972b), en se basant sur l'aspect en M.E.T. de la fraction des gluténines insolubles dans l'urée 3 M, et CROZET et al. (1974a), (après séparation de type OSBORNE, puis chromatographie sur Sephadex G 100), confirment l'idée de l'hétérogénéité de cette classe protéique, et lui attribuent une structure fibrillaire (100 à 200 Å) et granulaire.

Par contre, les gluténines précipitées par modification du pH ont une structure plus homogène avec des fibrilles orientées parallèlement (diamètre 1 μm) qui semblent participer à l'élaboration de minces fibres protéiques (diamètre 10 μm) (ORTH et al., 1973b).

De plus, KACZKOWSKI et al. (1978) trouvent en M.E.B. que les gluténines ont des structures de type globulaire, uniformes et compactes ce qui pourrait être attribué aux conditions d'extraction.

CROZET et al. (1974a), étudiant l'action différentielle d'enzymes protéolytiques sur la gluténine isolée, montrent que, si la protéase

fongique et la trypsine forment au hasard des zones d'hydrolyse, la pepsine, elle, agirait de façon plus sélective ; son action permet de démasquer de petits fragments constitués de fibrilles protéiques de faibles dimensions.

2) Les gliadines

Les gliadines, extraites par le solvant A.U.C. et isolées par tamisage moléculaire, apparaissent en M.E.B. sous forme de larges feuilles protéiques (ORTH et al., 1973b) même si, parfois, elles peuvent être de nature plus hétérogène (STACHELBERGER, 1977b).

Fixées par l'acide osmique et visualisées en M.E.T., les gliadines sont lisses et compactes (CROZET et al., 1974).

La gliadine est attaquée par la protéase fongique qui fait apparaître des structures réticulées, des enroulements lamellaires ainsi que des filaments, vraisemblablement de nature lipoprotéique. La pepsine démasque des fibrilles enchevêtrées (CROZET et al., 1974).

Peu de travaux ont porté sur la structure microscopique des albumines et des globulines du blé. Selon CROZET et al. (1974), elles seraient plus proches morphologiquement des gluténines que des gliadines.

Signalons enfin que, sous l'effet du pétrissage, les fibrilles de gluténine s'organisent en un réseau engendrant rapidement un véritable "film" protéique. Par contre, le surpétrissage cause des cassures qui entraînent sa désagrégation. Ces changements de configuration au cours du travail d'une pâte renforcent l'idée selon laquelle les gluténines sont l'élément-clé de l'élaboration du réseau protéique des pâtes boulangères (TU et TSEN, 1978).

IV) GROUPEMENTS THIOLS ET PONTS DISULFURES

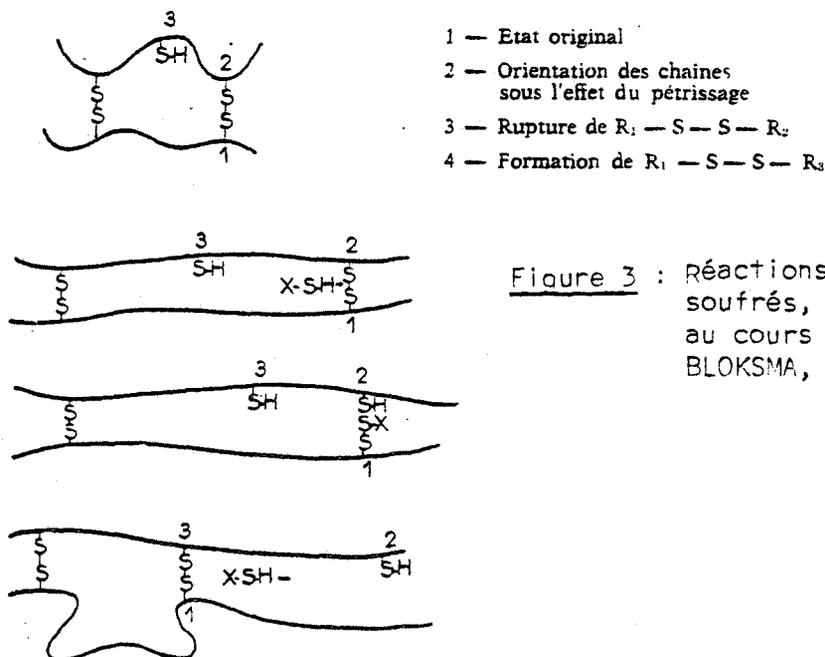
Depuis l'adaptation de la méthode ampérométrique au dosage des groupements soufrés de la farine (KONG et al., 1957 ; BLOSKMA, 1958, 1959), de nombreux travaux ont été réalisés. On sait que les agents d'oxydation renforcent le réseau protéique des pâtes boulangères, à l'inverse des agents réducteurs ou de blocage des groupements -SH, tel que la N-Ethyl Maléimide (MECHAM, 1959 ; BUSHUK, 1961 ; BLOSKMA, 1972 ; JONES et al., 1974).

Les valeurs obtenues, qui peuvent varier en fonction de la méthode de dosage (BLOSKMA, 1959), indiquent des teneurs en SH comprises entre 0,6 et 1,8 $\mu\text{moles/g}$ de farine (soit, environ 4 à 19 $\mu\text{moles/g}$ de protéine) (KONG et al., 1957 ; BLOSKMA, 1959 ; MATSUMOTO et HLYNKA, 1959 ; SOKOL et al., 1959 ; SULLIVAN et al., 1961 ; MECHAM, 1968 ; POPINEAU et GODON, 1976).

Les teneurs en ponts disulfures vont de 7 à 17 $\mu\text{moles/g}$ de farine, soit 60 à 130 $\mu\text{moles/g}$ de protéine (HIRD et YATES, 1960 ; AXFORD et al., 1962 ; TSEN et ANDERSON, 1963 ; STEVENS, 1966 ; MECHAM, 1968 ; GODON, 1969 ; POPINEAU et GODON, 1976).

Quant au rapport $-\text{SH}/-\text{SH} + \text{S}-\text{S}$, il pourrait être en relation avec les propriétés physiques des pâtes (BLOSKMA, 1968 ; GODON, 1969 ; POPINEAU et GODON, 1976).

Aucune relation précise entre les teneurs en $-\text{SH}$ ou $-\text{S}-\text{S}$ et la valeur boulangère n'apparaissant, divers chercheurs ont insisté sur la distinction à faire entre les groupements soufrés actifs et inactifs. SOKOL et al. (1960a) sont ainsi amenés à classer les $-\text{SH}$, en fonction de leur réactivité, en $-\text{SH}$ dits accessibles (25 % selon JONES et al., 1974) et inaccessibles ou passifs. Les premiers sont modifiés lors du pétrissage et causent la baisse de la teneur en thiols observée lors des cinq premières minutes de pétrissage (BLOSKMA, 1972 ; SOKOL et al., 1960b ; TANAKA et BUSHUK, 1973b). Ils sont susceptibles d'engendrer des réactions d'échanges avec des ponts disulfures (figure 3)



Il en est de même pour les ponts disulfures (EWART, 1972) présumés responsables de l'élasticité des pâtes (BLOKSMA, 1958). On distingue des liaisons disulfures réellement actives (BLOKSMA, 1972) : 4 % sont concernés lors de la formation de la pâte et 11 à 13 % déterminent la résistance au pétrissage (JONES et al., 1974). Le surpétrissage peut entraîner la cassure des liaisons et entraîner la désagrégation des pâtes (EWART, 1968, TANAKA et BUSHUK, 1973a et b) ce qui facilite l'extraction des gluténines (TSEN, 1967 ; TSEN, 1969).

Les gliadines n'ont que peu d'influence sur les propriétés physiques des pâtes. Le rôle fondamental revient aux liaisons disulfures qui relient entre elles les sous-unités de gluténine (MACRITCHIE, 1975). Les ponts -S-S- les plus sensibles aux ruptures sont situés au centre des molécules de gluténine, où la tension de cisaillement est maximale ; les sous-unités de gluténine dépourvues, en cet endroit, de telles liaisons stabilisent la pâte. De plus, des ruptures de ponts disulfures sont susceptibles d'entraîner la cassure de chaînes protéiques voisines (EWART, 1968) (Figure 4).

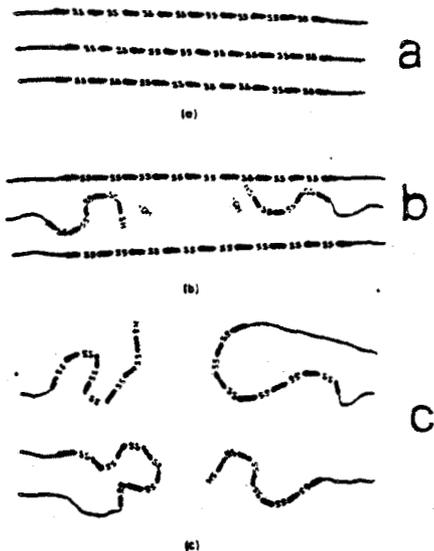


Fig. 4 : Une cassure se produit au sein de la molécule de gluténine (a). Les deux fragments se rétractent (b) et les deux radicaux soufrés captent l'hydrogène de l'eau. Les groupements -SH ainsi créés entraînent la rupture des chaînes adjacentes par réactions d'échange (c) (d'après EWART, 1968).

Récemment, GRAVELAND et al. (1978) ont mis au point un nouveau procédé de dosage ampérométrique des -SH basé sur la dissolution de la farine à des concentrations très faibles (1 à 2 mg de protéine/65 ml de tampon) dans un tampon SDS-Urée, pH 7. Ce procédé évite la mauvaise solubilisation des solutions protéiques trop concentrées, tandis que le SDS dénature les protéines, les dissocie, tout en ayant une bonne conductivité électrique. Les teneurs en -SH trouvées alors (5 à 7 μ moles SH/g de farine) sont six fois supérieures aux valeurs habituellement rapportées.

Le rôle des peptides porteurs de groupements soufrés, comme les glutathions réduits et oxydés, a également été mis en évidence, comme intermédiaires des échanges SH/ -S-S (KUNINORI et MATSUMOTO, 1964 ; POMERANZ, 1971 ; COVENTRY et al., 1972 ; les déterminations les plus récentes indiquent des teneurs en glutathion réduit de 0,27 à 0,72 μ moles et pour la forme oxydée, 0,19 à 0,38 μ moles par g de farine (WEBER et GROSCH, 1978 ; GROSCH et al., 1978).

L'analyse des acides aminés montre que la teneur en cystéine des gliadines est supérieure à celle des gluténines pour le cultivar Vilmorin 23 (MOSSE et BAUDET, 1964). Toutefois, les sous-unités de gluténine ont une composition hétérogène (HUEBNER et al., 1974 ; HAMAUZU et al., 1975 ; ARAKAWA et al., 1977).

MATERIEL ET METHODE

1) ECHANTILLONS ANALYSES

Des analyses sont effectuées sur :

A) LES CULTIVARS DE BLE (*Triticum aestivum* L.) suivants :

1) Origine française, fournis par la S.C.A. A. MOMONT et Fils :

- "Rex" (blé améliorant)
- Alto, Bocquiau, Capitole, Castan, Copain, Courtot, Ducat, Eloi, Hardi, Lutin, Moisson, Protinal, Rudi, Top, 32-7-4 (très bonne ou bonne valeur boulangère)
- Arminda, Axel, Blason, Cappelle-Desprez, Fleurus, Gamin, Marne, Nicam, Roazon et Trio (valeur boulangère moyenne)
- Braco, Champlain, Gaillard, Heima, Joss, Reso, Rivoli, Talent, Wattines (valeur boulangère médiocre)
- Corin (impanifiable)

2) Origine française, fournis par la maison de sélection Florimond-Desprez :

- Arcole, Marengo et Glanor (bonne valeur boulangère)

3) Origine française, fourni par la Maison de Sélection Benoist :

- Braco (valeur boulangère médiocre)

4) Origine anglaise, fournis par la S.C.A. A. MOMONT et Fils :

- Maris Fundin et Maris Hobbit (valeur boulangère médiocre).
- Maris Huntsman, Maris Hustler, Maris Kinsman, Maris Mardler et Maris Nimrod (impanifiable)

5) Origine hollandaise, fourni par la S.C.A. A. MOMONT et Fils :

- Clément (impanifiable)

6) Origine Nord-américaine, fournis par la S.C.A.

A. MOMONT et Fils :

- Camus, Coronation, Garnet, Laval, Marquis, Mexique
50, Park, Régent, Rewall et Thatcher

B) DES LIGNEES NULLI-TETRASOMIQUES ET DITELOCENTRIQUES

de la variété Chinese Spring (Triticum aestivum L.) aimablement fournies
par le Docteur C.N. LAW (Plant Breeding Institute, Cambridge, Angleterre)

C) DES GRAINS F₁ ET F₂ issus de croisements réciproques choi-
sis sur la base de la composition parentale en sous-unités de gluténine
telle qu'elle est déterminée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide
-SDS. Ces croisements ont été effectués sous la responsabilité de
Mr P. POUILLARD (S.C.A. A. MOMONT et ses Fils). Ils concernent les culti-
vars Capitole, Castan, Copain, Courtot, Gamin, Hardi, Rudi croisés par
Clément, Corin, Joss et Maris Huntsman, et réciproquement.

Par gain de temps, certaines étapes de la croissance et
du développement se sont déroulées en serre (S.C.A. A. MOMONT et Fils),
ou ont nécessité la culture d'embryons immatures (réalisée sous la responsa-
bilité de Mr POUILLARD). Par ces méthodes, sont obtenues les premiers grains
F₂ sur plantes F₁, six mois après le premier croisement.

D) ESPECES APPARENTEES AU BLE ET AUTRES CEREALES

Nous avons procédé également à l'analyse d'espèces
apparentées au blé hexaploïde (que nous a très aimablement procurées le Docteur
DOUSSINAULT, de la station INRA de Rennes) et de différentes céréales (avoine,
orge, quinoa, seigle, triticales).

II) MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE

Les études portent sur les farines, les pâtes boulangères,
traitées ou non.

A) LES FARINES :

Les échantillons de blé sont moulus dans un moulin expérimental
puis métallisés avec un mélange or-palladium (10 mn) avant observation
(microscope électronique Stereoscan Cambridge).

B) LES PATES :

Le mélange farine-eau distillée (50 % d'humidité), sans adjonc-
tion de sel ou de levures et, éventuellement, traité à la N-éthyl-maléimide

ou au sulfite de sodium, est pétri dans un pétrin de laboratoire de type Pétrinex-Chopin (moulin Waast ; Mons en Pévèle) à la vitesse de 60 tours/mn. Des prélèvements sont effectués après 2, 5, 10, 20 et 30mn en respectant l'orientation de la pâte.

La pâte est immédiatement congelée dans l'azote liquide puis conservée au congélateur avant d'être lyophilisée. La métallisation à l'or-palladium (10 mn) intervient avant observation (Microscope électronique Stereoscan Cambridge).

C) L'EXTRAIT PROTEIQUE A.U.C. :

Les solutions protéiques extraites par le solvant A.U.C. sont lyophilisées après dialyse. Après métallisation (8 mn + 7 mn), les protéines sont observées (microscope électronique I.S.I.).

D) LES FRACTIONS PROTEIQUES PURIFIEES :

Les fractions obtenues après tamisage moléculaire sur Sépharose CL 4 B sont dialysées (4°C, 3 jours, 5 changements quotidiens) puis lyophilisées (3 jours). Une métallisation (8 mn + 7 mn) précède l'observation (microscope électronique I.S.I.).

III) DETERMINATION DES GROUPEMENTS SOUFRES

A) MATERIEL

Les dosages sont réalisés sur des grains broyés (broyeur à bille ; 1 minute) tamisés ou non sur un tissu à vide de mailles de 210 μ .

B) PRINCIPE - APPAREILLAGE

La méthode ampérométrique choisie est celle proposée initialement par BENESCH et BENESCH (1948).

Son principe et l'appareillage utilisé sont décrits de façon détaillée par DUBOIS (1980).

C) REALISATION DU DOSAGE

1) Détermination des -SH

200 mg de matériel sont mélangés dans 15 ml du milieu de dosage composé de Tris (hydroxyméthyl) aminométhane 0,75 M/KCl $7,2 \cdot 10^{-2}$ M.

De l'urée (8 M) peut être ajoutée (dosage des thiols totaux) ou non (thiols accessibles) ainsi que de l'EDTA $3 \cdot 10^{-4}$ M (BLOKSMA, 1959 ; BLOKSMA, 1963 ; TSEN et ANDERSON, 1963). Selon BENESCH et al. (1955),

le "Tris" n'a aucun effet dénaturant sur les protéines et facilite le dosage ; la présence de KCl accélère le retour du courant de diffusion au voisinage de zéro.

1 goutte d'octanol 1 (BUSHUK, 1961 ; TSEN et ANDERSON, 1963) est ajoutée (agent anti-moussant) puis un barbotage d'azote de 10 mn chasse l'oxygène dissout dans le milieu, tout en homogénéisant la solution. Les teneurs en -SH sont déterminées par dosage avec des solutions de nitrate d'argent à molarité comprise entre 10^{-4} et 10^{-3} M.

2) Détermination des -S-S-

Le dosage s'effectue dans les mêmes conditions après clivage des ponts disulfures par sulfitolyse :



IV) EXTRACTION DES PROTEINES TOTALES

Six grammes de farine complète sont délipidés par deux extractions successives au Butanol-1 distillé avant l'extraction (HUEBNER et ROTHFUS, 1971 ; BIETZ et WALL, 1972 ; HUEBNER et WALL, 1976) puis filtration sous vide sur entonnoir Büchner.

Quatre grammes de farine sèche délipidée sont alors mis en suspension dans 68 ml de Tampon A.U.C. (Acide acétique 0,1 M ; Urée 3 M ; Bromure de Cetyltriméthylammonium 0,01 M) selon la formule de MEREDITH et WREN (1966), et agités durant trois minutes. La suspension est centrifugée durant 30 mn à la vitesse de 17000 tours par minute. Le surnageant est conservé en chambre froide tandis que deux nouvelles extractions sont réalisées sur le culot de centrifugation.

Les surnageants sont rassemblés puis dialysés durant trois jours à 4°C, contre de l'eau distillée. L'extrait protéique brut est lyophilisé. Le rendement de l'extraction est apprécié soit par pesée des protéines lyophilisées, soit par dosage des protéines non extraites de la farine (culot de centrifugation) par la méthode de LOWRY et al. (1951).

V) TAMISAGE MOLECULAIRE DES PROTEINES TOTALES

50 mg des protéines préalablement extraites par le Tampon A.U.C. et lyophilisées sont dissoutes dans 5 ml d'une solution de chlorhydrate de guanidine 6 M (préalablement purifié par barbotage en présence de char-

bon activé) et chromatographiées, en direction ascensionnelle, sur une colonne de Sépharose CL 4 B (dimensions: 2,5 sur 70 cm), éluée par la même solution de chlorhydrate de guanidine (HUEBNER et WALL, 1980). Le tamisage moléculaire se poursuit durant quatre jours et demi. Une centaine de fractions de 5 ml sont recueillies. La densité optique de chacune d'elles est lue au spectrophotomètre, à la longueur d'onde de 280nm afin d'apprécier leur teneur en protéines.

VI) EXTRACTION DES GLUTENINES ET ANALYSES DES SOUS-UNITES

1) Extraction des gluténines

L'extraction des gluténines est effectuée selon la méthode de BIETZ et al. (1975) à partir de 20 mg de farine (pour les cultivars) ou de grain broyé (pour les hybrides F1). La farine est mise en suspension dans 5 ml d'une solution de NaCl 0,04 M et agitée durant 30 mn. Après centrifugation le surnageant contenant albumines et globulines est éliminé. Le culot est remis en suspension dans 5 ml de la solution saline mentionnée précédemment, puis agité 30 mn avant une nouvelle centrifugation. Deux extractions successives à l'éthanol 70 % sont réalisées selon le même processus (élimination des gliadines). Le culot est repris par 2 ml d'acide acétique 0,7 % et agité 30 mn ; 5,6 ml d'éthanol à 95 % sont ajoutés avant une nouvelle période d'agitation. Le pH de la solution est amené entre 6,6 et 8,0 et les tubes sont placés au bain bain d'eau glacée pendant 1 h afin de précipiter les gluténines. Une centrifugation à 4°C (8000 trs/mn ; 10 mn) permet d'éliminer le surnageant contenant les gliadines résiduelles ; le culot renfermant les gluténines est lyophilisé.

L'analyse des sous-unités de gluténine des grains F₂ est effectuée par traitement direct du grain broyé sans extraction préalable.

2) Electrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS

5 mg de SDS sont mélangés au culot d'extraction ou à la farine. L'extrait est ensuite dispersé dans 100 µl de tampon Tris 0,0625 M/HCl, pH 6,8 ; 2-mercapto-éthanol 5 % et SDS 2 %. Il est gardé à la température

du laboratoire durant 2 heures au cours desquelles il est agité de temps en temps. Placé 4 mn au bain-marie bouillant, on lui ajoute 100 μ l de tampon additionné de bleu de bromophénol (0,001 %). Après centrifugation, le surnageant est analysé par électrophorèse en tubes (longueur 8,5 cm, diamètre 0,5 cm). Les concentrations en acrylamide choisies sont de 5 et 7 %. Le tampon d'électrophorèse est préparé tel que le décrit LAEMMLI (1970). Le gel de séparation est composé d'un tampon Tris 0,150 M-HCl, pH 8,8. L'électrophorèse est effectuée sous courant constant de 2 mA par tube pendant le temps nécessaire pour que le bleu de bromophénol atteigne le bas du gel (environ 2 h). Les protéines sont colorées par le bleu de Coomassie Brilliant R 250 ; la décoloration est réalisée selon la méthode préconisée par WEBER et OSBORN (1969). La courbe d'étalonnage des poids moléculaires est déterminée en comparant la migration des chaînes polypeptidiques suivantes : β galactosidase (PM 133000) ; serum albumine bovine (68000) ; catalase (60000) ; pyruvate kinase (57000) ; ovalbumine (45000) ; pepsine (35000) ; trypsine (24000) et ribonucléase (13700).

R E S U L T A T S

1ERE PARTIE : RECHERCHES SUR LA VALEUR BOULANGERE

=====

PLANCHE I. - Modifications structurales occasionnées par
l'humidification d'une farine et le pétrissage
de la pâte

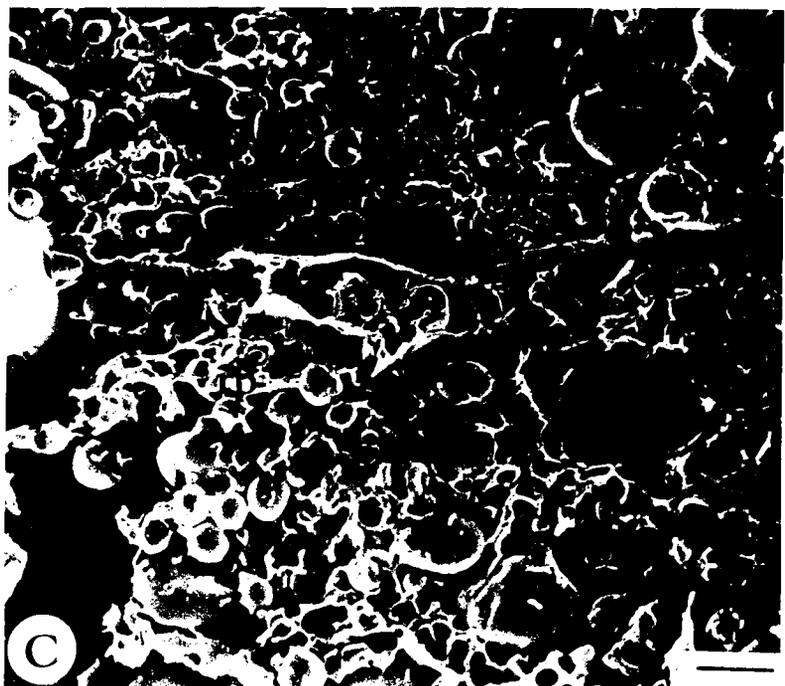
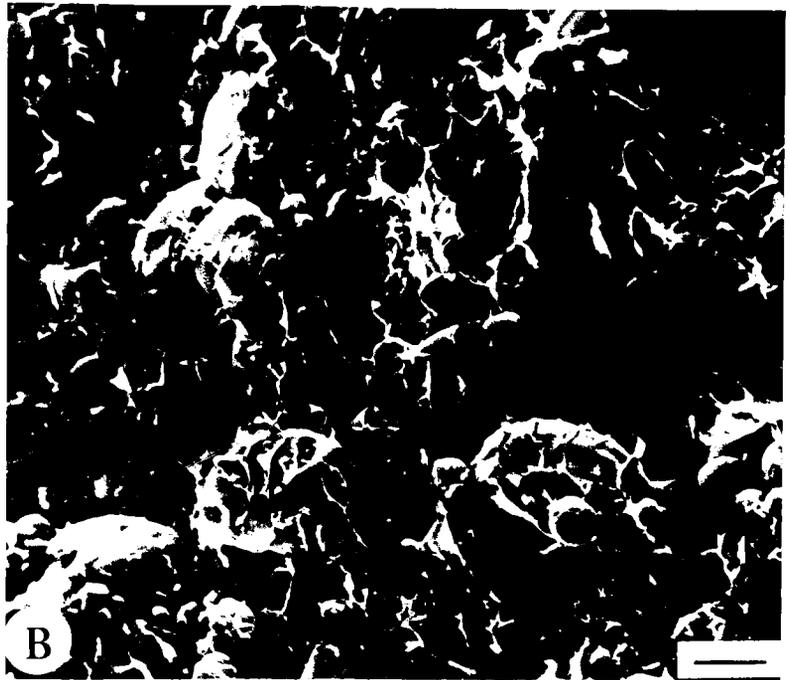
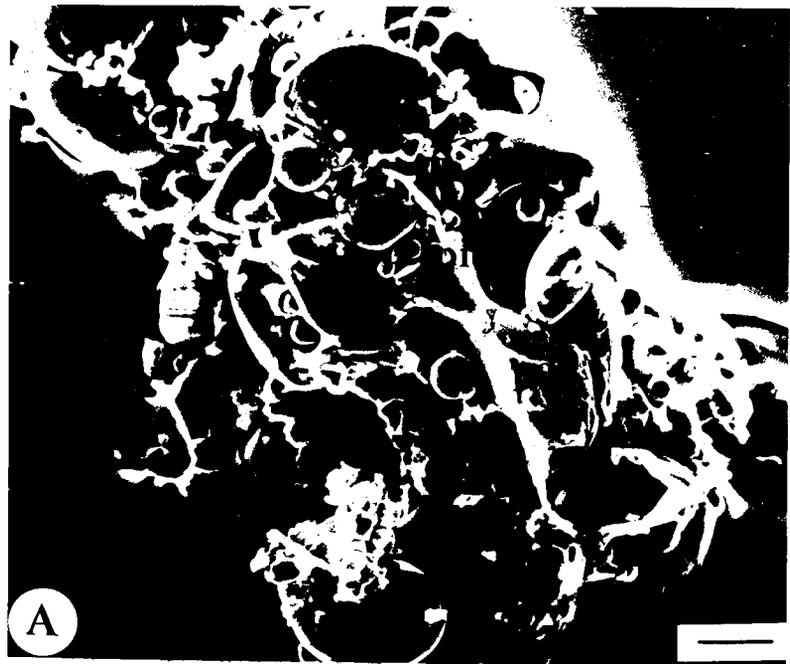
Observation en Microscopie Electronique à
Balayage

Le trait noir correspond à 10 μm

Micrographie A : Aspect d'une farine - On distingue les
"protéines intersticielles" (Pi) remplissant les interstices
entre les grains d'amidon (a), et les "protéines adhérentes"
liées plus intimement à l'amidon.

Micrographie B : Effet de l'hydratation - Les granules d'ami-
don (a) se mélangent ; les protéines sont sous forme de fila-
ments protéiques (fp) de 0,4 à 1 μm d'épaisseur.

Micrographie C : Par le pétrissage (20 mn), le réseau protéi-
que (rp), dense et réticulé, s'est constitué ; les grains
d'amidon (a) s'emprisonnent dans cette trame.



Certains résultats ont été résumés dans deux notes (BURNOUF et BOURIQUET, 1980 ; BOURIQUET et BURNOUF, 1980).

1) APPORTS DE LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE

L'utilisation de cette technique permet de visualiser les bouleversements occasionnés par l'humidification de la farine et le pétrissage de la pâte. Grâce à elle, on peut espérer discerner les éléments responsables de la valeur boulangère.

La farine a une structure hétérogène (Planche I-A) où se distinguent :

1) des grains d'amidon (a) de tailles diverses : entre 2 et 35 μm de diamètre. Leur aspect est variable : aplatis, de forme lenticulaire, ovales ou arrondis.

2) La matrice, de nature essentiellement protéique. Ses contours sont rugueux et irréguliers, vraisemblablement, sous l'effet de la mouture. On distingue :

- des protéines qui s'insèrent entre les grains d'amidon d'où leur dénomination de "protéines intersticielles" (HESS, 1961) (p.i.)

- des protéines liées plus intimement à l'amidon ou "protéines adhérentes" (HESS, 1961) (p.a.).

L'hydratation de la farine, et sa transformation en pâte entraînent des bouleversements très précis (Planche I, B).

A la structure rigide succède une conformation plus souple. Les grains d'amidon, jusqu'alors enrobés irrégulièrement et englués dans la trame protéique, se libèrent de cette emprise. La matrice protéique perd sa structure compacte. Les tranches rudes et acérées s'estompent tandis que les deux complexes que constituent "protéines intersticielles" et "adhérentes" fusionnent en fibrilles protéiques (f.p.). Du fait de l'hydratation, un réarrangement des divers constituants de la farine s'opère donc.

Le pétrissage se traduit par des déformations successives de la pâte et une oxydation poussée. L'observation microscopique d'une pâte pétrie pendant 20 mn (Planche I, C) permet de constater que les fibrilles protéiques se sont organisées en un réseau dense, réticulé et

PLANCHE II. - Effets de la N-éthyl maléimide (NEM) sur
l'aspect des pâtes

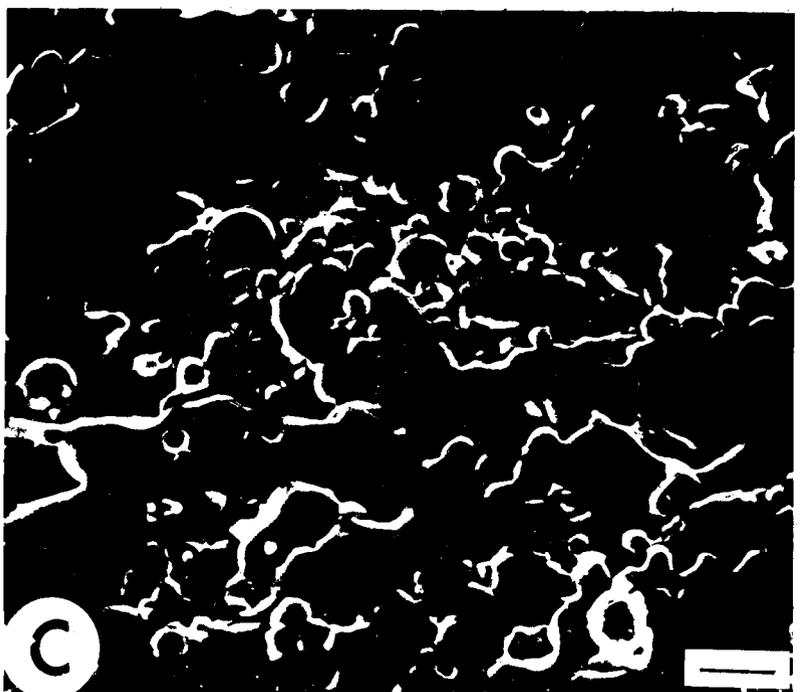
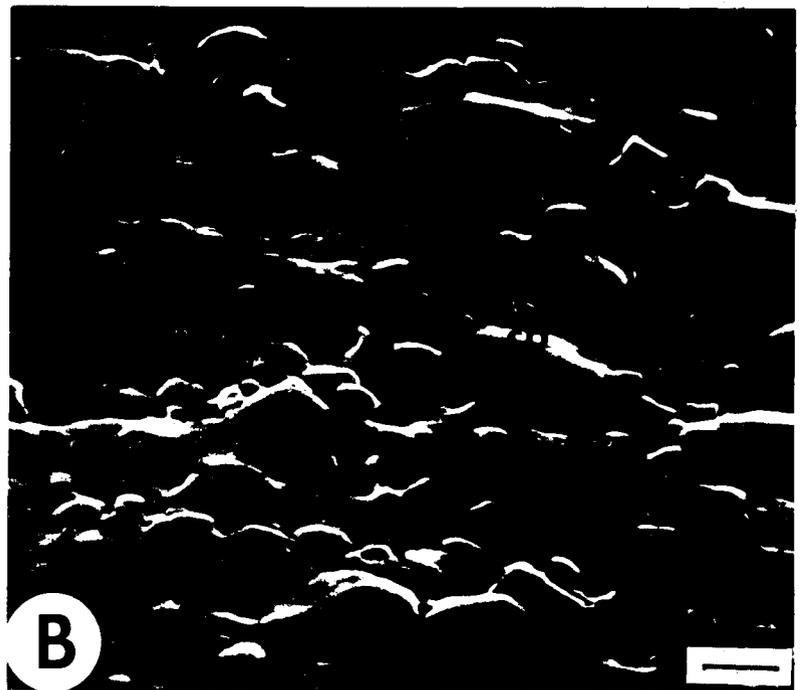
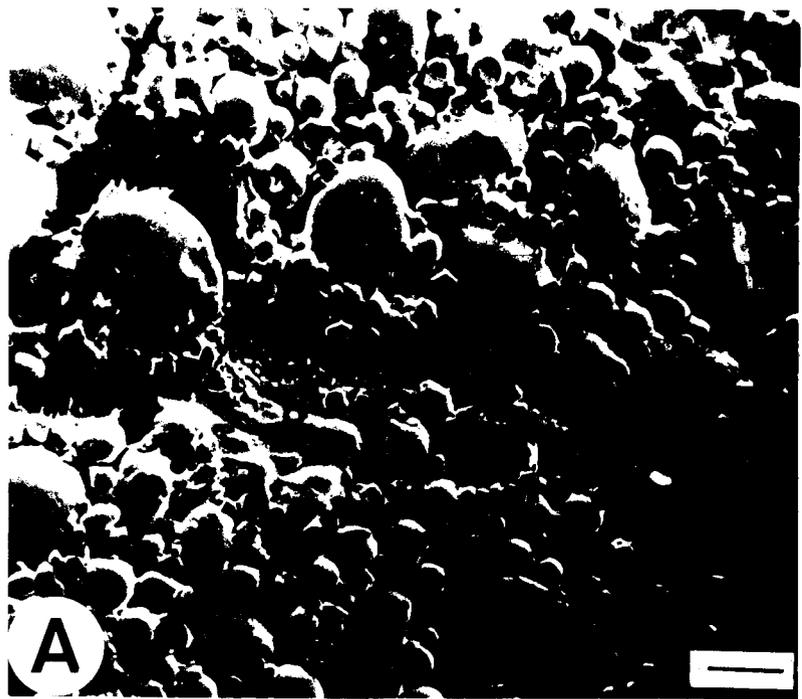
Vues de surface - Observations en Microscopie
Electronique a Balayage

Le trait noir correspond à 10 μ m

Micrographie A : Pâte témoin pétrie 5 minutes (Capitole) ;
les protéines (p) ne recouvrent pas totalement les grains
d'amidon (a).

Micrographie B : Pâte traitée à la NEM et pétrie 5 minutes
(Capitole). Les protéines s'étalent en une couverture protéi-
que (cp) masquant totalement les grains d'amidon.

Micrographie C : Pâte témoin pétrie 5 minutes (Maris Huntsman).
Convergence d'aspect avec la pâte précédente ; certains grains
d'amidon (a) apparaissent toutefois au travers de la couverture
protéique (cp).



continu, dont l'épaisseur est de 1 à 2 μm . Les interconnexions de ce réseau sont nombreuses ; elles constituent l'équivalent d'une charpente et délimitent de nombreuses alvéoles gazeuses. Les grains d'amidon, dans leur grande majorité, sont emprisonnés dans la trame qui les englobe et gêne leur mouvement. La fonction primordiale du pétrissage est clairement mise en évidence : la constitution du réseau protéique, qui apparaît comme l'élément déterminant de la valeur boulangère :

1°) par les modifications de structure qu'il subit depuis le stade de la farine jusqu'à celui de la constitution de la pâte;

2°) par les relations étroites qui le lient à l'amidon;

3°) et, surtout, par sa fonction de rétention des gaz libérés dans les alvéoles durant les étapes de la fermentation panaire.

Nous pensons que des défauts de sa constitution peuvent expliquer la mauvaise qualité de certains cultivars. Diverses déficiences au sein du réseau sont susceptibles de nuire aux propriétés physiques des pâtes. Trois sont examinées dans ce travail :

1°) teneur en groupements soufrés inadaptée;

2°) trop faible proportion de la fraction protéique du gluten la plus lourde (gluténine);

3°) composition en sous-unités de gluténine mal adaptée.

II) LES GROUPEMENTS SOUFRES

Les données bibliographiques attribuent aux groupements soufrés une influence sur certaines caractéristiques physiques des pâtes boulangères : la stabilité, la viscosité et l'élasticité (voir WALL, 1979 pour revue).

L'illustration en est donnée par les micrographies des planches II et III qui montrent les effets respectifs de la N-éthyl-

PLANCHE III. - Effet du sulfite de sodium sur la constitution du réseau protéique.

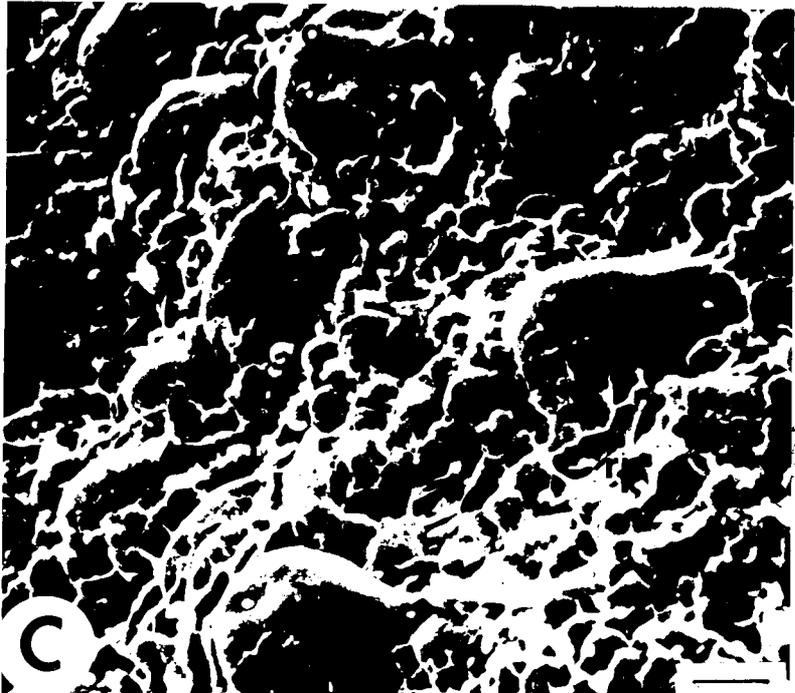
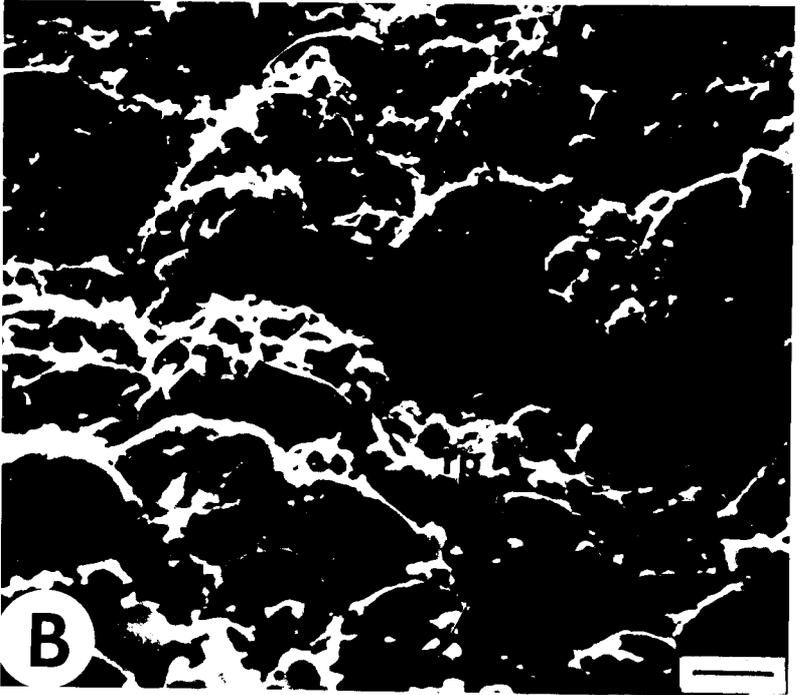
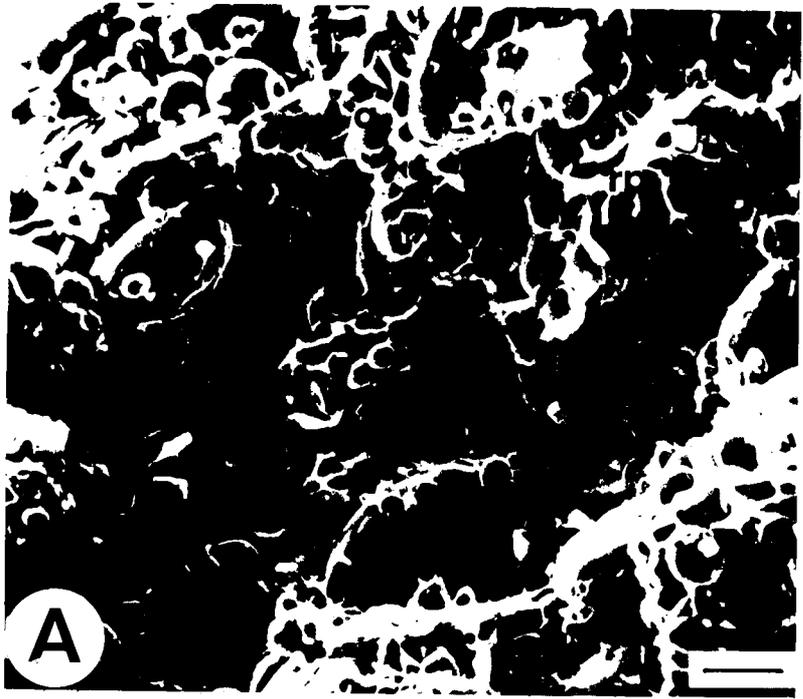
Vues au niveau d'une cassure - Observations en Microscopie Electronique à Balayage.

Le trait noir correspond à 10 μ m.

Micrographie A : Pâte témoin pétrie 10 minutes (Hardi). Le réseau protéique (rp) présente un aspect lisse et homogène. La zone de contact entre les grains d'amidon (a) et le réseau protéique est nette.

Micrographie B : Pâte traitée par le sulfite de sodium et pétrie 10 minutes (Hardi). Le réseau protéique (rp) est déchiqueté ; sa structure est détruite. Les protéines ont tendance à s'étaler à la surface des grains d'amidon (a).

Micrographie C : Comme précédemment, mais après 20 minutes de pétrissage (Hardi). Le réseau protéique (rp) se reconstitue (suite à l'oxydation due au pétrissage) mais conserve un aspect granuleux et fragile.



maléimide et du sulfite de sodium.

1) Effets de la N-éthyl maléimide (NEM)

Employée à raison de 30 mg pour 250 g de farine (soit approximativement 2 fois le contenu en thiols), la NEM, en bloquant les groupements thiols, se révèle avoir des effets très nets sur les pâtes boulangères traitées. Celles-ci, au lieu d'être fermes et souples, deviennent suintantes et collent aux parois du pétrin ; elles présentent, ainsi, certaines des caractéristiques physiques des cultivars impanifiables. L'observation en MEB de la surface de la pâte (Planche II) montre une grande analogie entre capitole traité (B) et Maris Huntsman non traité (C). La pâte fabriquée avec la farine Capitole non traitée (A) a une structure ordonnée, où la trame protéique (p) conserve une relative fermeté, laissant apparaître les grains d'amidon (a). Après traitement (B), une épaisse couverture protéique, sans consistance, masque l'amidon.

2) Effets du sulfite de sodium

Le sulfite de sodium coupe les liaisons disulfures. On constate (Planche III), à l'emplacement d'une cassure provoquée volontairement dans la pâte, qu'après une dizaine de minutes de pétrissage, le réseau protéique (rp) se constitue normalement dans la pâte témoin Hardi (A). Par contre, dans une pâte traitée (B), la trame protéique est déchiquetée, perdant par la même occasion ses propriétés fonctionnelles, puis tend à se reconstituer (C)

NEM et sulfite de sodium mettent ainsi en relief le rôle joué par les groupements soufrés dans l'expression des qualités physiques des protéines.

Nous avons donc voulu déterminer si des variations de teneurs en ces groupements préexistent au sein des échantillons choisis pour cette étude.

3) Dosage des groupements soufrés

Deux séries de manipulations sont entreprises :

a) quatre cultivars de blé hexaploïde, cultivés en 1976-77, de qualité différente, sont étudiés ; les teneurs en -SH totaux (milieu de dosage contenant de l'urée 8 M) et accessibles (milieu dépourvu



	A		B		C		D	
	de farine	-SH TOTALS de protéine	de farine	-SH ACCESSIBLES de protéine	de farine	-S-S TOTALS de protéine	de farine	-S-S ACCESSIBLES de protéine
CAPITOLE	1.25	10.4	0.6	4.9	9.1	76.6	1.92	16.1
HARDI	1.4	13.9	0.75	7.4	7	71.1	1.51	15.6
JOSS	1.25	13.1	0.5	5.0	7.5	78.9	1.77	19
MARIS - HUNTSMAN	1.35	13.2	0.65	6.4	8	79.8	1.85	18.6

TABLEAU I : Teneurs en groupements soufrés, totaux et accessibles, de la variété hexaploïde de blé

(récolte 1977 ; Mons-en-Pévèle)

d'urée), puis en -S-S- totaux et accessibles sont déterminées.

b) une comparaison est effectuée entre les taux de -SH totaux de cultivars de blé hexaploïde, tétraploïde, de seigle et d'avoine, cultivés en 1977-78.

1) Les blés hexaploïdes

Capitole, Hardi, Joss et Maris-Huntsman sont les cultivars analysés.

Le Tableau I indique les teneurs respectives de ces quatre variétés en -SH totaux (colonne A), accessibles (B) ainsi qu'en -S-S- totaux (C) et accessibles (D). Les valeurs sont exprimées par gramme de farine ou par gramme de protéines.

Le cultivar Hardi présente les taux de -SH totaux et accessibles les plus élevés (respectivement 1,4 et 0,75 μ moles par g de farine ; 13,9 et 7,4 μ moles par g de protéines). Les plus faibles teneurs sont détectées chez Capitole, à valeur boulangère très satisfaisante (respectivement 1,25 - 0,6 - 10,4 et 4,9 moles). Les taux en thiols mesurés chez Maris Huntsman sont voisins de ceux observés chez Hardi.

Les teneurs en -S-S- totaux ou accessibles exprimées par g de farine varient respectivement de 7 et 1,51 μ moles (Hardi) à 9,1 et 1,92 μ moles (Capitole). Les deux cultivars de mauvaise qualité boulangère ont des teneurs intermédiaires. Mais, chez ceux-ci, les teneurs en ponts disulfures, exprimées par gramme de protéines, sont supérieures.

Le rapport $\frac{\text{Thiols accessibles}}{\text{Thiols totaux}}$ (Tableau II, A) est approximativement égal à 50 %. Plus faible dans le cultivar Joss (40 %), il atteint une valeur supérieure dans Hardi (53 %).

Les proportions $\frac{\text{disulfures accessibles}}{\text{disulfures totaux}}$ (Tableau II, B) reflètent une quantité relative de -S-S accessibles supérieure dans les deux cultivars de mauvaise qualité (environ 24 %) par rapport à celle de Hardi et Capitole (environ 21 %).

	A	B
	<u>Thiols accessibles</u> Thiols totaux	<u>Disulfures accessibles</u> Disulfures totaux
CAPITOLE	48 %	21 %
HARDI	53 %	21,7 %
JOSS	40 %	24 %
MARIS-HUNTSMAN	48 %	23,3 %

TABLEAU II : Proportion entre groupements soufrés accessibles et totaux chez 4 variétés hexaploïdes (récolte 1977 - Mons en Pévèle)

2) Les céréales diverses

Les valeurs -SH de cinq cultivars de blé hexaploïde (Capitole, Clément, Hardi, Maris Huntsman et Rudi), de deux cultivars de blé tétraploïde, d'un cultivar de seigle et d'avoine, récoltés en 1978, sont mentionnées dans le Tableau III.

Pour les blés tendres, les teneurs enregistrées sont du même ordre que celles trouvées chez les cultivars récoltés en 1977 (en moyenne, 1 μ mole par g de farine ; 7,5 μ moles par g de protéine). Toutefois, des différences sont observées, qui peuvent être attribuées à l'influence de l'année, du lieu de culture, ainsi qu'au mode de préparation du matériel dosé (dosage effectué sur le grain complet et broyé, sans phase de tamisage). Les blés tétraploïdes, considérés comme impropres à la panification, montrent des teneurs en -SH plus importantes (1,3 et 1,44 μ moles par g de farine).

Si on compare les taux détectés chez le seigle et l'avoine, il apparaît que la quantité de groupements thiols est supérieure chez la céréale fournissant la farine aux qualités physiques les plus médiocres (avoine) : respectivement 1 et 2 μ moles par g de farine.

variété	Teneurs en SH totaux	
	μmoles par g de F g de P	
	CAPITOLE	1,04 8,32
Blé	CLEMENT	0,86 7,41
hexaploïde	HARDI	0,9 6,52
	MARIS-HUNTSMAN	0,88 8,46
	RUDI	1,10 8,46
Blé	AGATHE	1,3 9,5
tétraploïde	WELLS	1,44 9,53
Seigle	ZELDER	1,1
Avoine	SIRENE	2

TABLEAU III : Teneurs en groupements thiols des différentes variétés de blé tendre, blé dur, seigle et avoine (Récolte 1978, Mons-en-Pévèle).

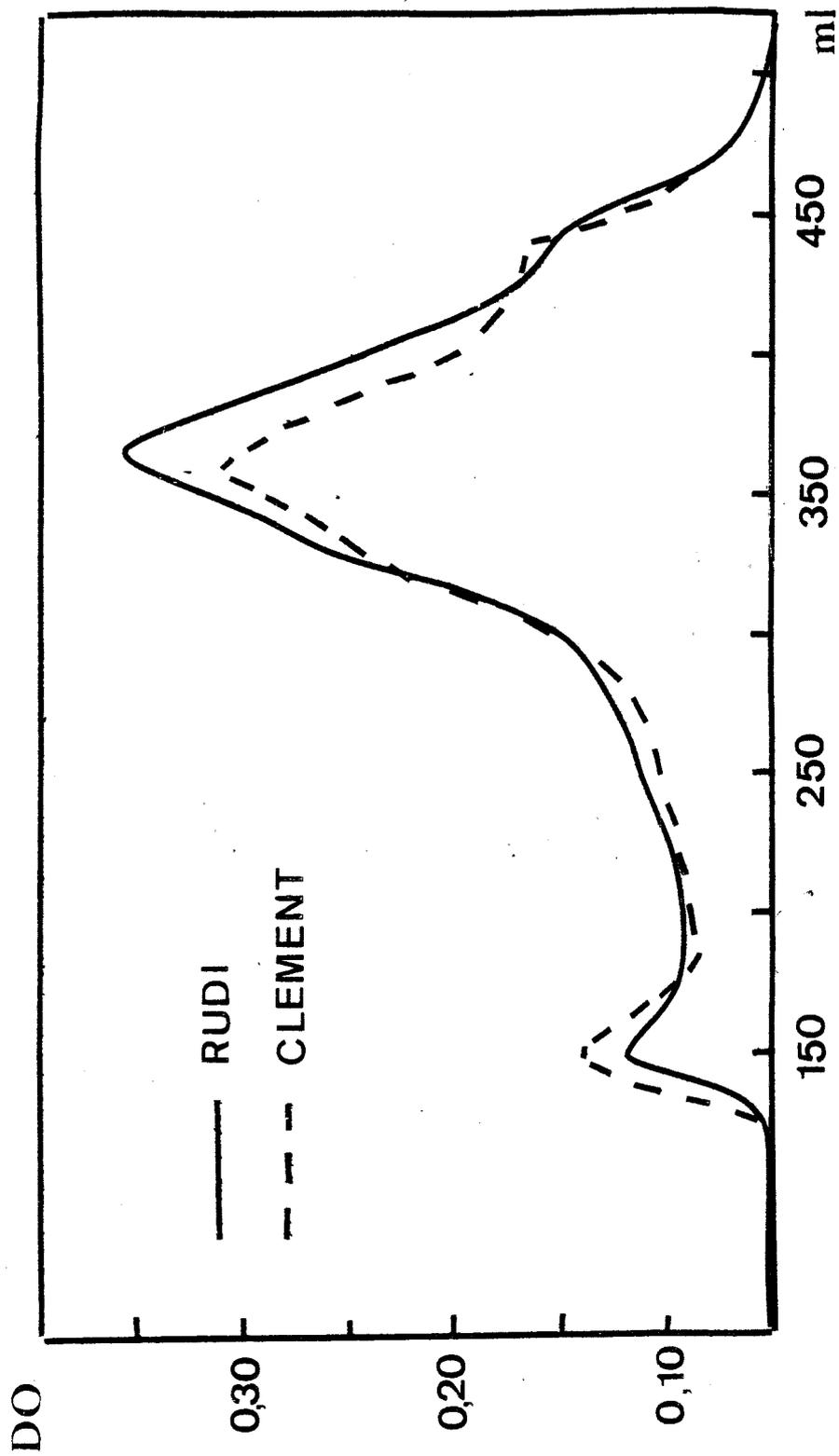
Les résultats obtenus ne laissent percevoir aucune relation précise entre les teneurs en groupements soufrés et la valeur boulangère.

Toutefois :

1°) Les teneurs en -S-S- exprimées par g de protéine plus élevées (Tableau I, C et D), ainsi qu'un rapport -S-S accessibles supérieur chez les blés hexaploïdes de mauvaise qualité, -S-S totaux

2°) Des teneurs en -SH plus grandes chez les céréales considérées comme impanifiables (blé dur, avoine) (Tableau III), peuvent suggérer un masquage possible, durant le dosage, de certains groupements soufrés rendus inaccessibles à l'agent de titrage. Un tel masquage peut s'expliquer par la complexité structurale de certaines fractions

Figure 5 : profil d'élution des protéines des cultivars Clément et Rudi extraites par le tampon A.U.C. et chromatographiées sur une colonne de Sépharose CL 4 B. Tampon d'élution : chlorhydrate de guanidine 6 M - Débit : 6 ml/h.



protéiques du grain de blé (en particulier la fraction des gluténines) qui seraient incomplètement dénaturées chez les céréales montrant les meilleures capacités technologiques.

III) FRACTIONNEMENT CHROMATOGRAPHIQUE DES PROTEINES

L'observation microscopique des pâtes en cours de pétrissage montre le rôle du réseau protéique. Certains comportements technologiques médiocres pourraient s'expliquer par une déficience en protéines de-HPM, dont on connaît l'importance dans l'élasticité et la ténacité des pâtes (WALL, 1979).

Les protéines, extraites selon la technique de MEREDITH et WREN (1966), sont chromatographiées en direction ascendante (tamisage moléculaire) sur une colonne de Sépharose CL-4B. Les fractions de 5 ml sont collectées et leur absorbance est déterminée à 280 nm. La figure 5 présente les profils d'éluion obtenus pour les cultivars Clément et Rudi. Ceux-ci sont très comparables à ceux trouvés précédemment pour des variétés différentes par HUEBNER et WALL (1976), puis, parallèlement, par PAYNE, et al. (1979) et, enfin, par HUEBNER et WALL (1980).

La première fraction (gluténine I), éluee par 125 ml a un PM vraisemblablement supérieur à 5 millions.

La fraction II (gluténine II), éluee en un pic très dispersé, comprend des composants dont les PMs s'établissent entre 100 000 et 5 millions.

La fraction III (constituée essentiellement de gliadines) et, à fortiori, la fraction IV (albumines et globulines) présentent des PMs inférieurs à 100 000.

Le Tableau ci-dessous mentionne les proportions relatives de chacune de ces fractions dans différents cultivars. Ces valeurs sont obtenues par détection de l'absorption à 280 nm.

	Gluténine I	Gluténine II	Gliadine	Albumine globuline
Capitole	9.5	19.3	62,6	8.6
Clément	7.8	18.1	64.8	9.3
Hardi	8.2	20.4	62.1	8.3
Maris Huntsman	8.2	19.6	62.1	10.1
Rudi	8.3	17.1	66.6	8.1

PLANCHE IV. - Structure microscopique de fractions protéiques isolées.

Micrographie A : Fraction protéique extraite par le tampon A.U.C. Cultivar Hardi.

Le trait noir correspond à $14 \mu\text{m}$

Micrographie B : Fraction protéique extraite par le tampon A.U.C. Cultivar Capitole.

Le trait noir correspond à $9 \mu\text{m}$

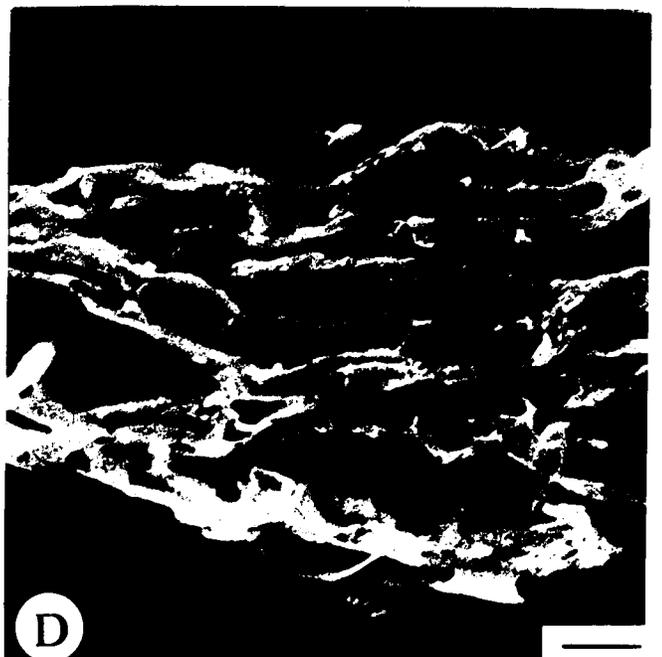
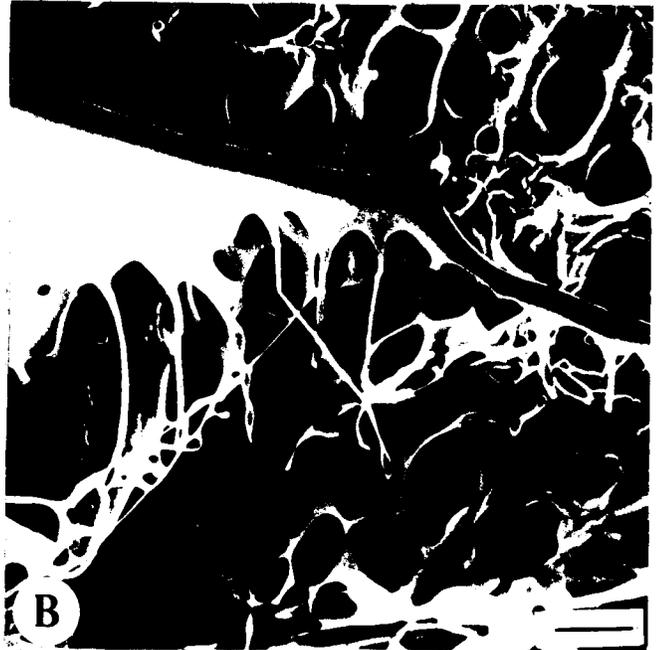
Micrographie C : Fraction Gluténine II obtenue par tamisage moléculaire des protéines extraites par le tampon A.U.C. Cultivar Rudi.

Le trait noir correspond à $1 \mu\text{m}$

Micrographie D : Fraction Gluténine I obtenue par tamisage moléculaire des protéines extraites par le tampon A.U.C. Cultivar Maris Huntsman.

Le trait noir correspond à $1,5 \mu\text{m}$





Les résultats obtenus n'indiquent pas de différences significatives d'un échantillon à l'autre. La fraction de gluténine I représente environ 8 à 9 % de l'ensemble des protéines extraites dans le tampon AUC, la fraction gluténine II, 15 à 18 %. Les gliadines constituent la majorité des composants extraits, soit environ 65 %, tandis que albumines et globulines sont présentes à un taux approximatif de 7 à 12 %. L'ensemble des gluténines forme donc de 23 à 28 % des protéines chromatographiées. Nous serons amenés, toutefois, à discuter par la suite, la valeur de ces résultats, qui n'indiquent aucune relation entre qualité boulangère et proportion de protéines à HPM.

La planche IV montre la structure microscopique de certaines de ces fractions protéiques.

IV) COMPOSITION EN SOUS-UNITES DE GLUTENINE

Les observations microscopiques laissent supposer qu'une déficience ou qu'une inadaptation de la composition en sous-unités de gluténine peuvent nuire aux qualités du réseau protéique. De tels défauts sont, en effet, susceptibles de se traduire, au sein de la pâte, par un manque de ténacité ou de fermeté.

Nous avons procédé à l'analyse de la composition en sous-unités de gluténine par la technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu SDS.

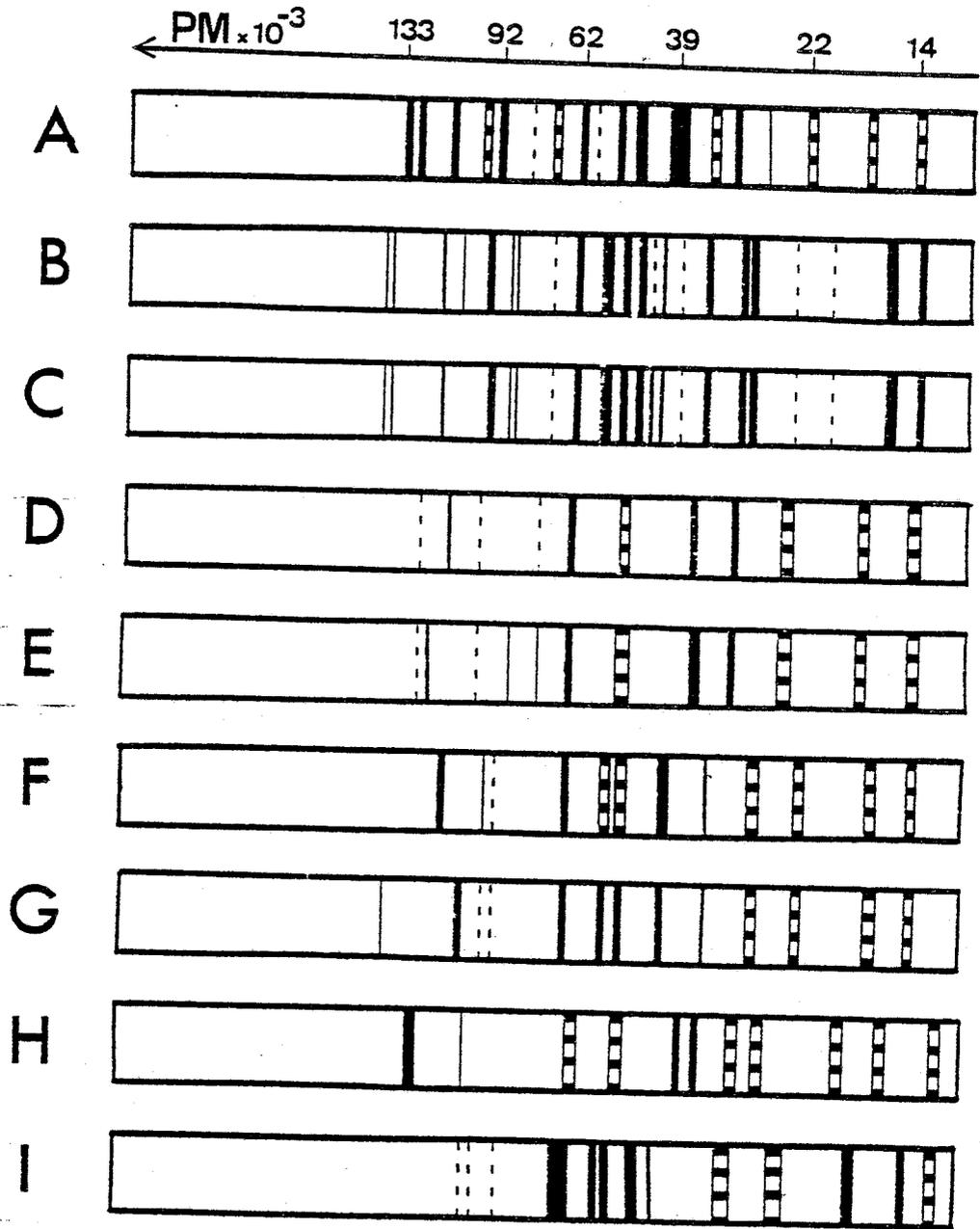
Afin de cerner l'importance de ces sous-unités, l'étude de céréales diverses, constituant un échantillonnage très large de qualité, s'impose tout d'abord.

A) COMPOSITION DE DIVERSES CEREALES EN SOUS-UNITES DE GLUTENINE

La figure 6 présente les électrophorégrammes des gluténines réduites des cultivars d'avoine (I), d'orge (H), de blé dur (G et F), de seigle (E), de triticales (D), de quinoa (C et B) et de blé tendre (A)

La composition en sous-unités de gluténine présente une très grande variabilité d'un genre à l'autre et d'une espèce à l'autre. De très nombreux composants différents sont, en effet, détectés. Leurs PMs s'établissent entre 150000 et 14000 daltons. Les bandes de PM inférieur à 60000 sont présentes en nombre sensiblement comparable au sein de l'échantillonnage. Mais, des différences de composition marquées caractérisent la région des sous-unités les plus lourdes (PM supérieur à 60000).

Figure 6 : Diagramme électrophorétique des sous-unités de gluténine extraite de : Triticum aestivum cv. Hardi (A), Chenopodium quinoa cv. Blanca de Juni (B), Chenopodium quinoa cv. Real de Puno (C), Triticale (hexaploïde) (D), Secale cereale cv. Zelder (E), Triticum durum cv. Agathé (F), Triticum durum cv. Wells (G), Hordeum vulgare cv. Athos (H), Avena sativa cv. Sirene (I).



Ainsi, l'avoine, est particulièrement dépourvu en sous-unités de HPM (traces), de même que les blés durs ou l'orge, qui présentent une bande (PM approximatif de 125000) intensément colorée. Dans le seigle et le triticale, quatre et cinq bandes de HPM, faiblement concentrées, sont respectivement détectées. Les céréales décrites ici ont, à des degrés divers, des propriétés technologiques peu satisfaisantes.

Les deux cultivars de quinoa, considéré comme une céréale (SIMMONDS, (1979) ayant révélé quelques aptitudes à la panification, montrent une composition en sous-unités de "gluténine, plus complexe. Sept ou huit bandes à PM supérieur à 60000 sont présentes ; deux d'entre elles, synthétisées en quantité réduite, ont un PM particulièrement élevé : 140000 et 150000 environ

La complexité la plus haute dans la composition en gluténines réduites est détectée chez le blé tendre (cultivar Hardi). Huit bandes à PM supérieur à 60000, dont sept fortement ou très fortement concentrées, sont mises en évidence.

De prime abord, la relation entre le nombre des sous-unités de glutéline et les propriétés technologiques est peu précise. Elle semble, plus particulièrement, concerner le groupe des sous-unités de PM supérieur à 60000 ; c'est, en effet, dans cette catégorie que les différences de composition, liées éventuellement à la qualité physique des pâtes, sont les plus nettes.

Cette première analyse laisse donc présager l'influence des caractéristiques des sous-unités de glutéline sur les capacités technologiques des céréales. Toutefois, certaines sous-unités, parmi les plus lourdes, peuvent, à certains égards, présenter une influence plus favorable.

Il nous faut donc vérifier que la liaison, mise en évidence ici, se confirme pour un échantillonnage de cultivars de blé tendre à valeur boulangère très différente. Dans un deuxième temps, il faudra déterminer si chaque sous-unité a un rôle identique ou si, au contraire, certaines sont plus favorables à l'expression de la qualité boulangère des blés hexaploïdes.

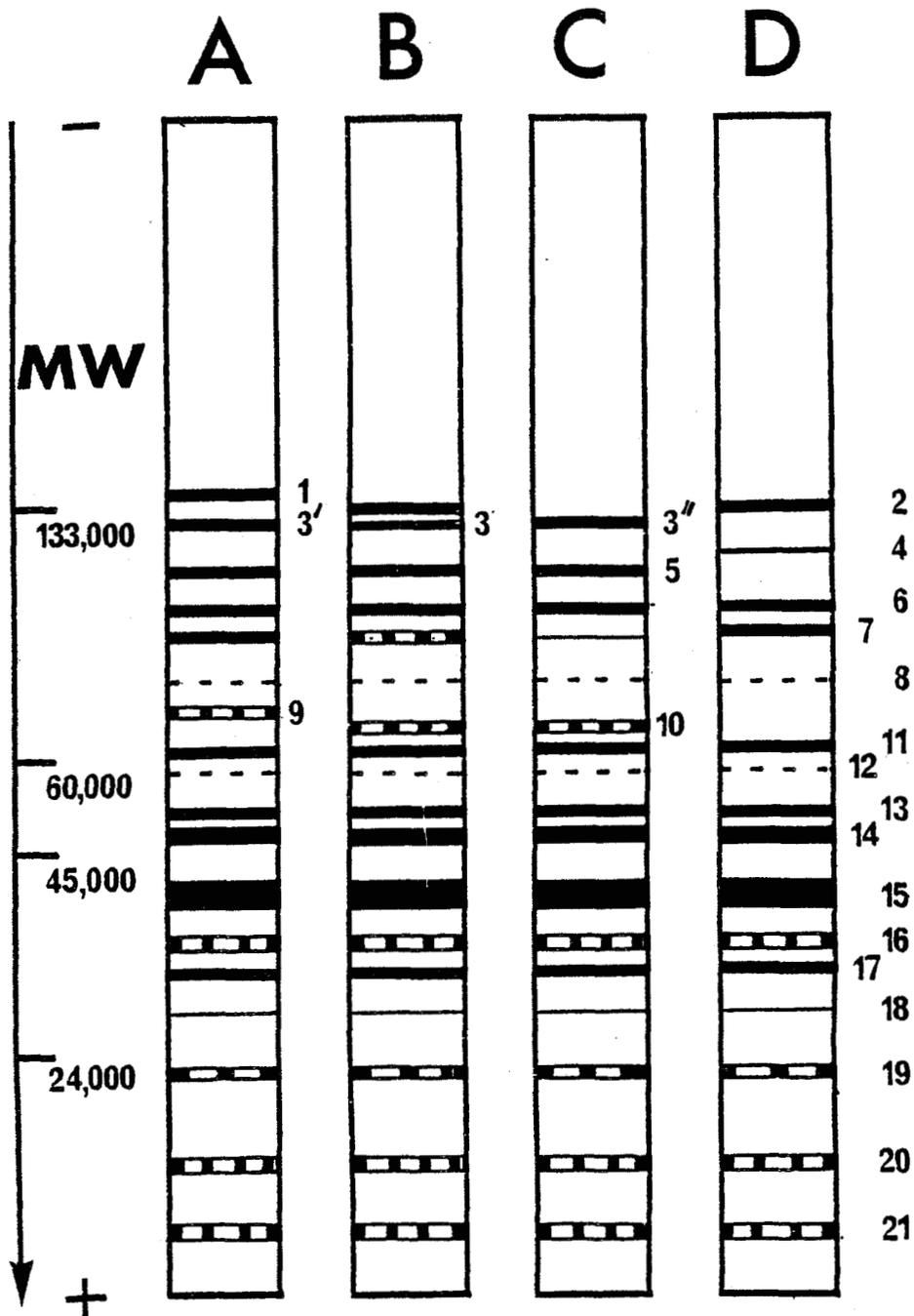


Figure 7 : Diagramme de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide - S D S des sous-unités de gluténine extraite des cultivars Rex (A), Castan (B), Protinal (C) et Maris Huntsman (D)
Poids moléculaire (M W) approximatif : 1 = 140 000 ;
2 = 133 000 ; 3, 3' ou 3'' = 122 000 ; 4 = 111 000 ;
5 = 108 000 ; 6 = 96 000 ; 7 = 92 000 ; 8 = 80 000
9 = 71 000 ; 10 = 66 000 ; 11 = 62 000



B) COMPOSITION DES CULTIVARS DE BLE TENDRE EN SOUS-UNITES DE GLUTENINE

Les analyses de la composition des 47 cultivars européens conduisent aux constatations suivantes :

1) Variabilité de la composition en sous-unités de gluténine

La figure 7 présente le diagramme électrophorétique des sous-unités de gluténines extraites des cultivars Rex (A), Castan (B), protinal (C), et Maris-Huntsman (D) et séparées sur un gel à concentration en acrylamide de 5 %. On répertorie ainsi les diverses bandes détectées au sein des 47 cultivars étudiés ; on indique leur PM approximatif de même que la numérotation adoptée.

La séparation électrophorétique des gluténines réduites conduit à distinguer, pour l'échantillonnage concerné, 16 types d'électrophorogrammes.

La composition en sous-unités de moyens et faibles PM (N° 11 à 21) paraît identique chez tous les cultivars.

Au contraire, il y a une grande variabilité au niveau des sous-unités de gluténine de plus haut PM (supérieur à 60000). Ainsi, si les bandes 6, 7, 8, et 11 participent à la structure des gluténines de tous les cultivars, les bandes 1, 2, 3, 3', 3'', 4, 5 et 10 sont parfois absentes.

Une classification basée sur la présence de quatre bandes à plus haut PM (n°^s 1, 2, 3'' et 5) permet de regrouper les 16 types d'électrophorogrammes en quatre classes :

a) la sous-unité 5 (108000) est présente dans les cultivars de trois classes que l'on distingue par le PM de la sous-unité la plus lourde :

- 140000 (sous unité 1) : classe I (figure 8)
- 133000 (sous unité 2) : classe II (figure 9)
- 122000 (sous unité 3'') : classe III (figure 10)

Figure 8: Classe I ; diagramme des sous-unités de gluténine à H P M des cultivars : Rex (A), Gamin (B), Ducat (C).

Figure 9 : Classe II ; Diagramme des sous-unités de gluténine à H P M des cultivars : Courtot, Hardi, Marengo (A) ; Castan (B) ; Top (C) ; Arcole, Capitole, Copain, Maris Hobbit, Maris Fundin, Moisson, Roazon, Rudi (D) ; Axel, Blason, Cappelle-Desprez, Fleurus, Marne (E) ; Arminda, Nicam, Trio (F) ; Braco, Champlein, Gaillard, Réso, Rivoli, Talent, Maris Kinsman (G)

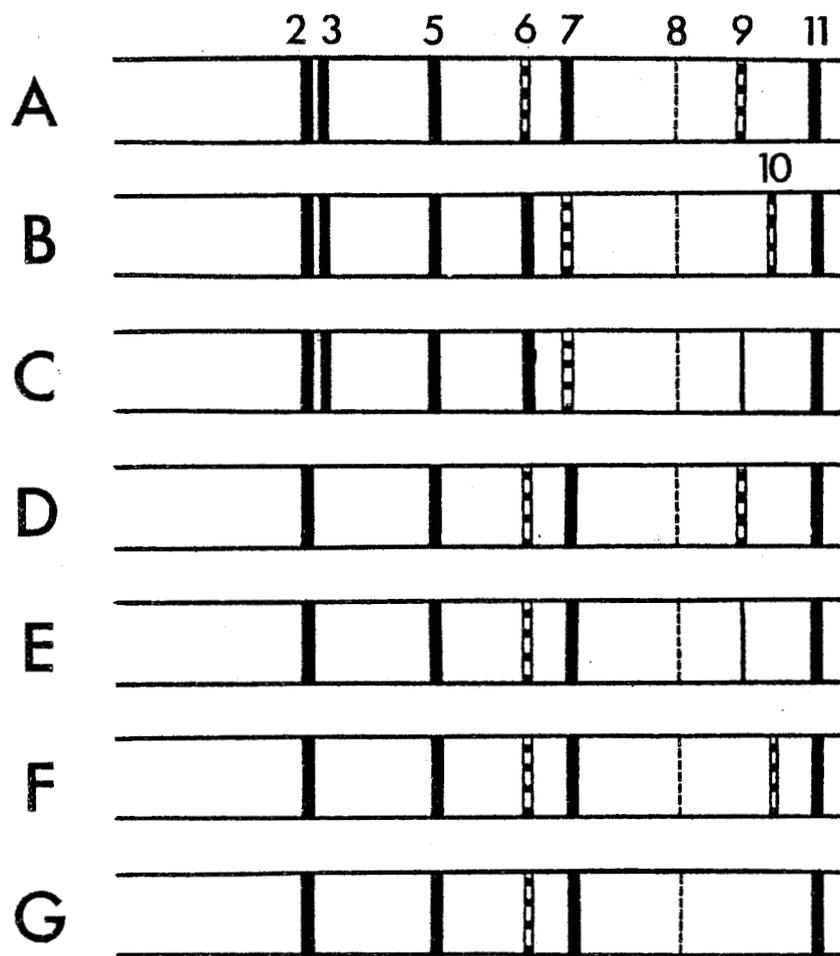
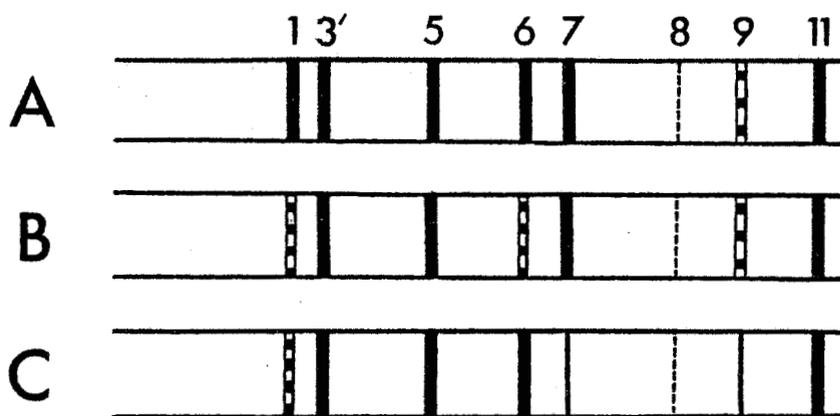
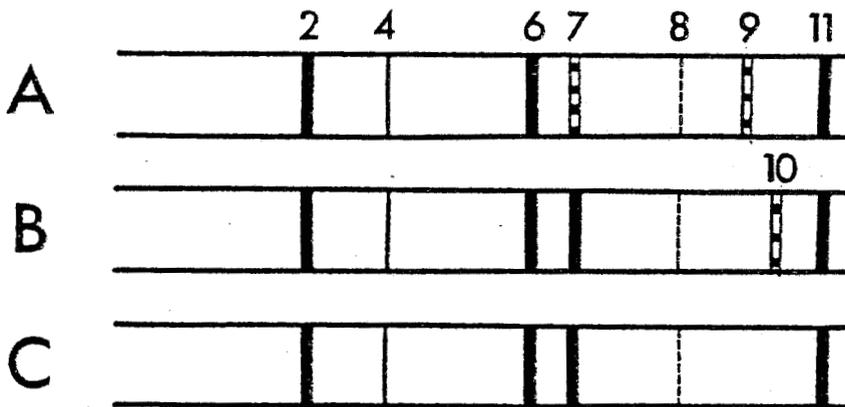
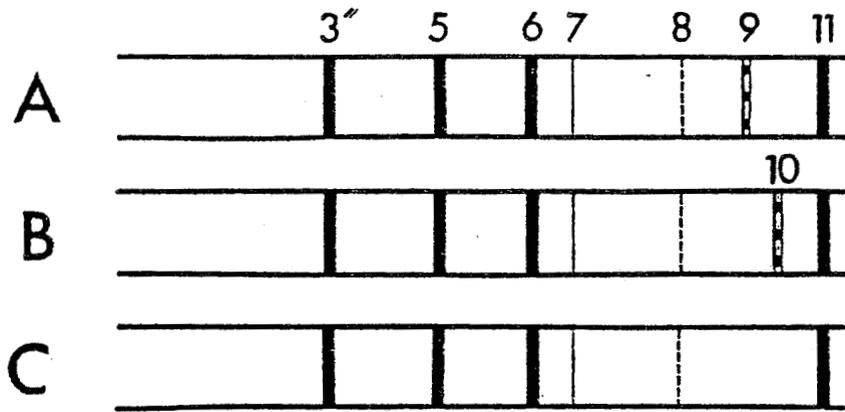


Figure 10 : Classe III ; Diagramme des sous-unités de gluténine à H P M
des cultivars : 32. 7. 4 (A) ; Protinal (B) ; Alto, Bocquiau,
Glanor, Lutin (C).

Figure 11 : Classe IV ; Diagramme des sous-unités de gluténine à H P M
des cultivars : Eloi, Heima, Maris Mardler, Wattines (A) ;
Corin, Joss (B) ; Clément, Maris Huntsman, Maris Hustler,
Maris Nimrod (C).



b) la sous-unité 5 est absente dans les cultivars de la classe IV (figure 11).

Le nom des cultivars appartenant à chacune de ces classes est indiqué dans la légende des figures correspondantes.

2) Relations avec la valeur boulangère

a) analyse d'ensemble

De tous les cultivars analysés, Rex présente la force boulangère la plus élevée, faisant de ce cultivar un blé améliorant. Sa composition en sous-unités de gluténine est la plus complexe ; huit sous-unités ayant un PM supérieur ou égal à 62000 sont détectées. Cinq d'entre elles, très intensément colorées, ont des PMs compris entre 92000 et 140000.

De la même façon, de nombreux cultivars à qualité boulangère très bonne ou bonne, tels que Hardi, Courtot, Marengo, Castan, Top, Capitole, Rudi, Copain etc.. (figure 9 A-D) présentent une composition en sous-unités de gluténine complexe.

Par contre, à la très médiocre aptitude au pétrissage des cultivars impropres à la panification, comme Clément, Maris-Huntsman, Maris Hutsler et Maris Nimrod (Figure 11 C) correspond l'absence de plusieurs bandes (n^{os} 1, 3, 3', 3'', 5, 9 ou 10).

Cette première analyse est en faveur d'une relation entre le nombre des sous-unités de gluténine à HPM et la qualité boulangère. Ceci tend à confirmer les premières conclusions élaborées à la suite de l'étude des céréales.

b) influence individuelle des sous-unités

Mais, chaque sous-unité possède-t-elle la même influence sur la qualité ? Nous voyons que certaines d'entre elles, présentes chez des blés de bonne qualité, manquent chez les autres. De la même façon, la sous-unité n^o 4 existant chez les blés médiocres, est absente des cultivars de bonne qualité.

- sous-unités pouvant avoir un rôle positif

La classification préalablement établie permet de répondre à cette question car elle laisse apparaître une liaison plus précise entre

le diagramme électrophorétique et la qualité technologique des farines. En effet, Rex, de même que 27 des 28 cultivars ayant une valeur boulangère moyenne à très bonne, possèdent la sous-unité 5 ; c'est le cas de Courtot, Hardi, Marengo, Castan, Top, Arcole, Capitole, Copain, Cappelle, de valeur supérieure, mais aussi de Marne, Nicam ou trio, de moyenne qualité.

Au contraire, trois cultivars sur les 11 à valeur boulangère médiocre, Heima, Wattines, et Joss (Figure 11 A-B), de même que 6 des 7 cultivars inaptes à la panification française, Clément, Maris Huntsman, Maris Hustler, Maris Nimrod (Figure 11 C), Corin (figure 11 B) et Maris Mardler (Figure 11 A) ne possèdent pas cette sous-unité. Celle-ci pourrait donc jouer un rôle déterminant sur la valeur boulangère.

L'analyse des cultivars français de la classe II (Figure 9), qui sont originaires soit de Cappelle-D, soit de ses parents, Vilmorin 27 ou hybride de Joncquois, et qui présentent donc une parenté génétique étroite (Figure 12), permet de cerner l'influence possible des autres sous-unités en particulier des bandes 3, 9 et 10.

Ainsi, la bande 3 est présente chez les cultivars de très bonne qualité, caractérisée par une force boulangère élevée : Hardi, Courtot, Marengo, Castan, et dans une moindre mesure, Top (Figure 9). Par contre, elle est absente de blés à valeur boulangère très bonne, mais de force légèrement moindre, comme Capitole, Rudi ou Moisson, de même que chez des cultivars de valeur inférieure (Figure 9 D) tels que, par exemple, Axel et Blason (Figure 9 E), Fleurus et Maine (Figure 9 F), Braco, Champlein, Gaillard, Rivoli et Talent (Figure 9 G).

Un rôle moins précis paraît joué par les bandes 9 et 10. Les cultivars de bonne qualité comme Courtot, Hardi, Marengo (Figure 9 A), Arcole, Capitole, Copain, Rudi, Moisson (Figure 9 D) possèdent la bande 9 en quantité importante. Elle est présente en plus faible proportion chez des cultivars de qualité moyenne (Axel, Blason, Cappelle-D, Fleurus ou Marne : Figure 9 E). Arminda, Nicam et Trio (Figure 9 F), également de moyenne qualité boulangère, ne possèdent pas la bande 9. Son absence pourrait être compensée par l'existence de la bande 10, de PM légèrement inférieur (66000). Le manque simultané de ces deux composants des gluténines pourrait être à l'origine de la médiocrité des cultivars Braco, Champlein,

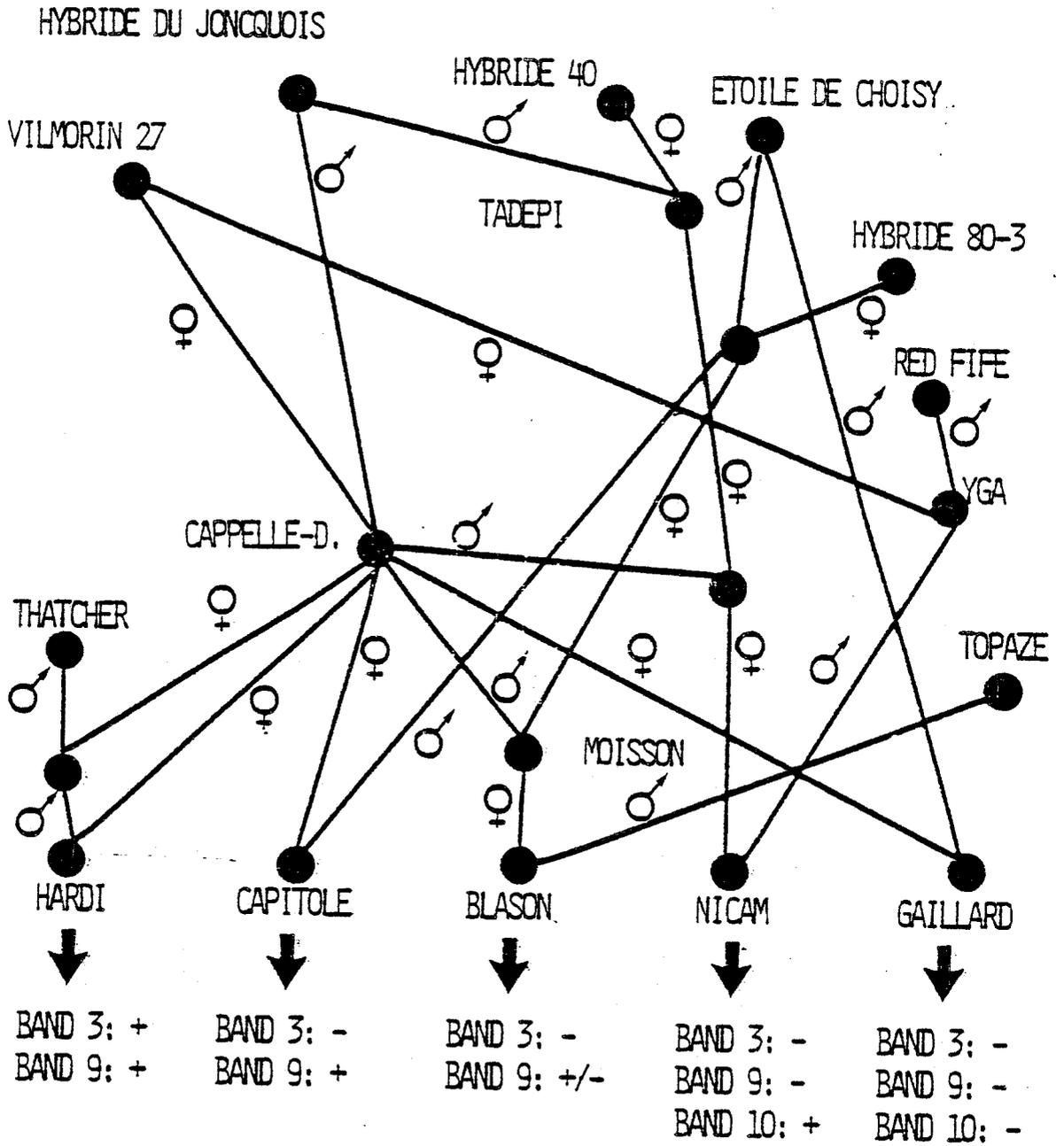
Figure 12 : Lien de parenté et caractéristiques de la composition en sous-unités de gluténine de cinq cultivars de la classe II

"band" : bande

"very good bread-making quality" : très bonne valeur boulangère

"mediocre bread-making quality" : valeur boulangère médiocre

- + : bande présente
- : bande absente
- +/- : bande présente en faible quantité



VERY GOOD
BREAD-MAKING
QUALITY



MEDIOCRE
BREAD-MAKING
QUALITY

+ : BAND PRESENT
- : BAND ABSENT

+/- : BAND PRESENT IN SMALL QUANTITY



Gaillard, Réso, Rivoli ou Talent (Figure 9 G). Ceux-ci sont, toutefois, de qualité supérieure à celles de Clément, Maris-Huntsman, Maris-Hustler ou Maris-Nimrod (Figure 11 C) qui ne contiennent pas la bande 5.

La figure 12 montre la composition en sous-unités de gluténine de 5 cultivars de la classe II ainsi que leurs liens de parenté. On peut noter que la bande 3 présente dans Hardi est sans doute transmise par Thatcher, qui est une variété Nord-Américaine d'excellente qualité, et chez laquelle cette bande existe.

Une étude des classes I et III confirme le rôle présumé de la bande 3 puisque les cultivars de ces deux classes, dont Rex, contiennent une bande (notée 3' ou 3'') de PM identique ou similaire dans nos conditions d'électrophorèse. Ces blés, dépourvus de la bande 2 sont, à l'exception de Gamin, de bonne qualité.

Rex, cultivar améliorant, possède également la sous-unité 1. Celle-ci est présente chez Ducat, à la force boulangère satisfaisante, et très vraisemblablement chez Copain, comme l'ont montré les analyses ultérieures. Elle n'a jamais été détectée chez des cultivars de mauvaise qualité. Elle joue donc, très certainement, un rôle positif dans l'expression de la qualité boulangère.

- sous unités sans influence notable

Il est possible de classer dans cette catégorie toutes les bandes de PM inférieur à 62000 puisqu'aucune différence de composition n'est détectée parmi les cultivars.

La sous-unité 2 ne paraît pas, non plus, jouer un rôle défini. Elle existe aussi bien dans des cultivars de très bonne qualité (Hardi, Courtot, Marengo, etc..., figure 9A-C ; Arcole, Capitole, Moisson, Rudi fig. 9 D) que dans des blés impanifiables (Clément, Maris Huntsman, Maris Hustler, Maris Nimrod figure 11C).

De la même façon; les bandes 7 (trouvée à doses variables) et 11, présentes dans tous les cultivars, ne paraissent pas avoir d'influence particulière sur la qualité boulangère.

- sous-unité présentant une relation négative avec la valeur boulangère

On peut considérer que la sous-unité 4 appartient à cette catégorie. En effet, sur les 10 cultivars possédant cette sous-unité,

un est de bonne valeur (sur les 19 de la même qualité), 3 sont de qualité médiocre, et 6 sont impanifiables (Figure 11 A-C). Sa présence montre donc une relation négative avec la valeur boulangère.

3) Comparaisons avec 10 cultivars Nord-américains

L'analyse réalisée sur les cultivars nord-américains, de bonne qualité boulangère indique qu'ils possèdent la sous-unité 5. Leurs diagrammes électrophorétique appartient aux classes II (A ou D) ou III), mais jamais à la classe IV.

La première partie de ce travail consacrée à la composition en sous-unités de gluténine révèle donc un lien possible avec la qualité boulangère.

Ces résultats ne peuvent constituer qu'une première étape.

Nous nous engageons donc, en collaboration avec P. POUILLARD, dans un programme de croisements entre cultivars de qualité opposée, possédant une composition en gluténine différente.

Cette orientation vise, tout d'abord, à analyser le mode de transmission génétique des sous-unités de gluténine. Ensuite, et à plus long terme, il s'agit de vérifier la corrélation entre la présence de certains composants gluténines et la valeur boulangère.

Des résultats obtenus dépend l'utilisation de cette méthode d'analyse dans la sélection des variétés de blé panifiables.

2EME PARTIE : APPROCHE DU DETERMINISME GENETIQUE DES
=====
SOUS-UNITES DE GLUTENINE

Au cours de cette étude, les trois points suivants ont été envisagés :

- Analyse de la composition en sous-unités de gluténine des espèces apparentées au blé hexaploïde

- Etude des lignées aneuploïdes de la variété Chinese Spring qui permet de localiser les gènes codant certaines sous-unités de HPM

- Transmission héréditaire des composants de gluténine aux générations F1 et F2.

1) ETUDE D'ESPECES APPARENTEES AU BLE HEXAPLOIDE

On sait que le blé constitue une série allopolyploïde.

La figure 13 représente la composition en sous-unités de gluténine d'espèces apparentées au blé hexaploïde. Elles possèdent des niveaux de ploïdie différents :

. espèces diploïdes (2 x) :

- Triticum boeoticum (génomé A) (Figure 13 K)
- Triticum monococcum (génomé A) (Figure 13 J)
- Aegilops spelta (génomé B) (Figure 13 I)
- Aegilops squarrosa (génomé D) (Figure 13 H)

. espèces tétraploïdes (4 x) :

- Triticum timopheevi (génomés A et G) (Figure 13 G)
- Triticum dicocoides (génomés A et B) (Figure 13 F)
- Triticum dicococcum (génomés A et B) (Figure 13 E)
- Triticum durum (génomés A et B) (Figure 13 D)

. espèces hexaploïdes (6 x) :

- Triticum compactum (génomés A, B et D) (Figure 13 C)

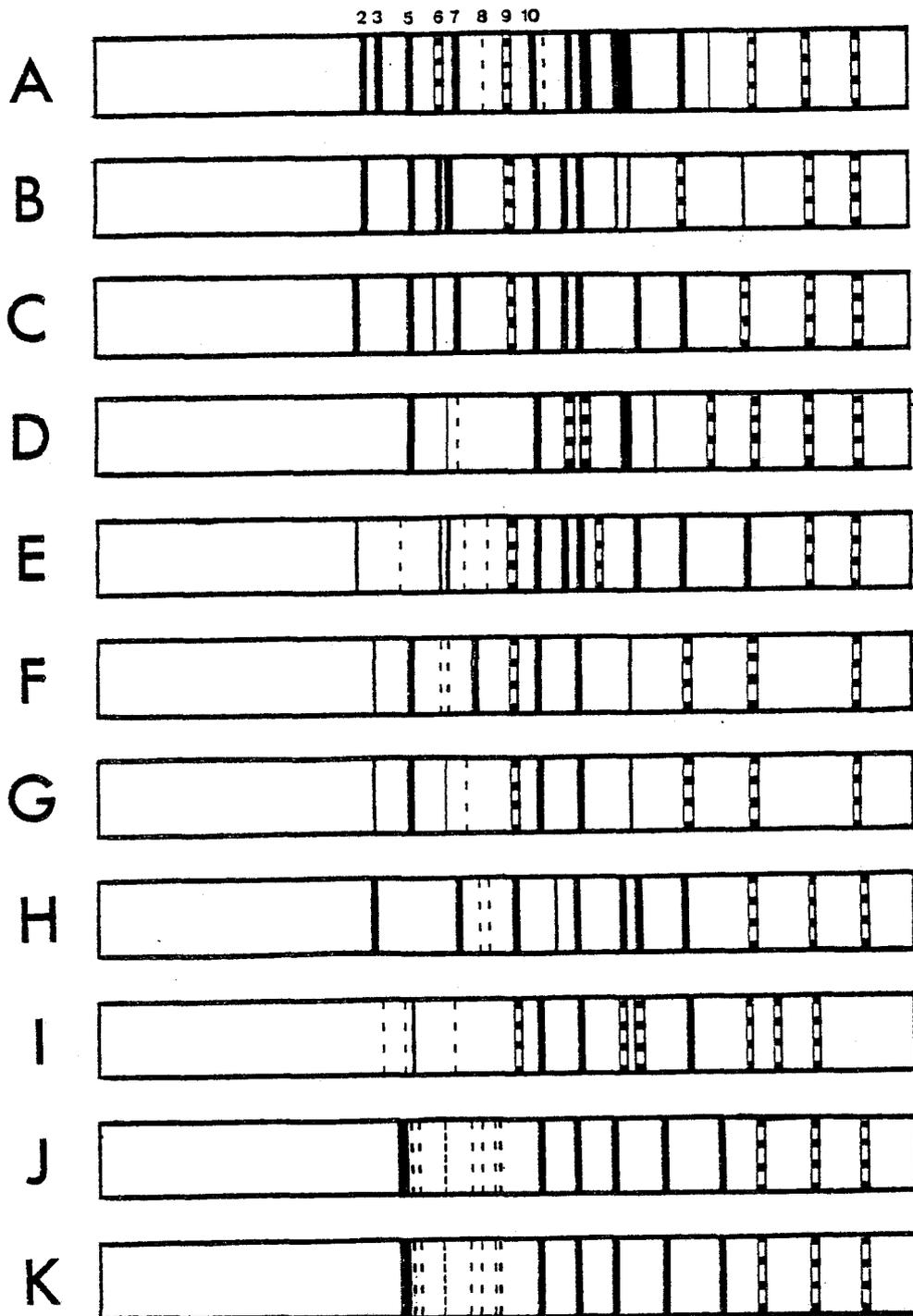


Figure 13 : Diagrammes électrophorétiques des sous-unités de glutéline extraite de : Triticum aestivum cv. Hardi (A), Triticum compactum (B), Triticum spelta (C), Triticum durum cv. Agathé (D), Triticum dicoccum (E), Triticum dicoccoïdes (F), Triticum timopheevi (G), Aegilops squarrosa (H), Aegilops spelloïdes (I), Triticum monococcum (J), Triticum boeoticum (K).



- Triticum spelta (génomés A, B et D)
(Figure 13B)
- Triticum aestivum (génomés A,B et D)
(Figure 13 A)

Il y a globalement un lien entre le nombre, et surtout l'intensité de la synthèse des sous-unités de HPM, et la ploïdie ; leur importance est plus grande dans les espèces hexaploïdes que dans les tétraploïdes. Les espèces diploïdes possèdent les quantités les plus réduites.

La variabilité de composition est élevée et rend donc aléatoires des recherches d'analogie de constitution en gluténines réduites.

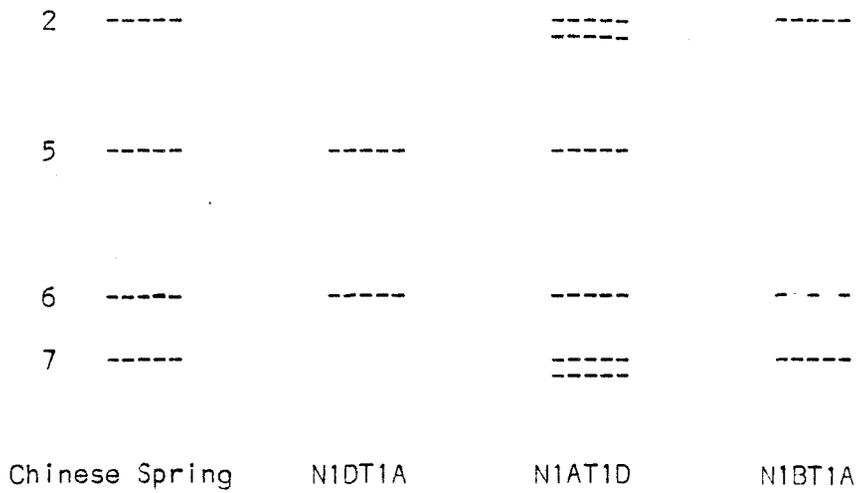
Toutefois, il est possible de noter que Triticum aestivum (cv. Hardi) renferme des sous-unités comparables à certains composants portés par :

- Aegilops squarrosa (bandes 2 et 7)
- Aegilops speltaïdes (bandes 5)
- Triticum durum (bandes 5)

Ces observations peuvent fournir quelques indications sur l'origine génétique de ces composants même si elles doivent être confirmées.

Notons aussi que les formes cultivées (T. monococcum et T. dicoccum) d'espèces sauvages (T. boeoticum et T. dicoccoïdes) ont conservé des compositions en gluténines identiques ou très voisines.

Enfin, il n'est pas inutile de souligner l'existence dans Triticum spelta (Figure 13C) d'une bande de très haut PM (140 000) absente dans Triticum aestivum (cv. Hardi).



----- : bande présente en concentration normale
===== : bande présente en concentration deux fois supérieure
- - - : bande présente en concentration moindre

Figure 14 - Analyse des lignées nulli-tétrasoniques de la variété Chinese Spring.

Les sous-unités 2 et 7 sont codées par un gène situé sur le chromosome 1D, la sous-unité 5 par un gène localisé sur le chromosome 1B. Une sous-unité de la bande 6 est codée par un gène du chromosome 1B.



II) ANALYSE DES LIGNÉES ANEUPLOÏDES DE CHINESE SPRING -
LOCALISATION DES GENES

La localisation chromosomique des gènes codant les constituants de gluténine, séparés électrophorétiquement, est rendue partiellement possible par l'analyse des lignées aneuploïdes de Chinese Spring.

L'observation de la composition en sous-unités de gluténine des lignées nulli-tétrasoniques, dans lesquelles l'absence d'une paire de chromosomes est compensée par la présence d'une autre paire du même groupe d'homéologie, permet de connaître le chromosome porteur de l'information génétique.

En effet, la disparition d'une sous-unité accompagne l'absence du chromosome porteur du gène codant sa synthèse. Parallèlement, des concentrations accrues de la protéine traduisent l'existence d'exemplaires supplémentaires du chromosome correspondant.

Les lignées ditélocentriques, chez lesquelles les deux bras homologues (suivant le cas, les bras courts ou les bras longs) du chromosome sont absents, permettent, d'après le même principe, de localiser plus précisément le gène qui est à l'origine de la synthèse des sous-unités.

La figure 14 résume les principaux résultats acquis par l'analyse de ces lignées.

Chinese Spring, ainsi que les lignées aneuploïdes des groupes d'homéologie 2, 3, 4, 5, 6 et 7 ont une composition en sous-unités apparemment identique ; ceci suggère qu'aucun chromosome appartenant à ces groupes ne porte de gènes codant pour des constituants de HPM.

Par contre, les sous-unités 2 et 7 manquent dans les lignées nulli-tétrasoniques N1DT1A et N1DT1B. Elles existent à une concentration deux fois supérieure dans les lignées N1AT1D et N1BT1D. Les gènes responsables des synthèses sont donc situés sur le chromosome 1D. L'absence de ces deux protéines dans la lignée ditélocentrique 1DS, leur présence

dans la lignée 1DL indiquent que le long bras de ce chromosome est porteur de ces gènes.

Les albumens des lignées N1BT1D et N1BT1A sont dépourvus de la sous-unité 5, de même que ceux de la lignée ditélocentrique 1BL. Un gène localisé sur le long bras du chromosome 1B code donc cette sous-unité.

L'absence chez Chinese Spring des bandes 1, 3, 3', 3'' et 4, la résolution insuffisante des sous-unités constituant la bande 7 et, sans doute, les bandes 9 et 10 ne permettent pas de localiser les gènes gouvernant leur synthèse.

III) CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRANSMISSION HEREDITAIRE DES SOUS-UNITES DE GLUTENINE

Une relation entre la présence de certaines sous-unités et la valeur boulangère ayant été envisagée, il est donc nécessaire de préciser les modalités de la transmission héréditaire de ces composants. De nombreux croisements entre cultivars de qualités diverses et à composition différente en constituants gluténines ont été réalisés. Nous avons suivi le devenir des sous-unités de HPM en nous intéressant plus particulièrement aux sous-unités susceptibles de jouer un rôle technologique, et présentes dans un seul des parents de croisement initial.

A) GENERATION F1

Nous considérons que deux échantillons ont des constituants identiques lorsqu'ils présentent des bandes qui ont une même migration dans un système de résolution donné.

Ces bandes peuvent, toutefois, avoir une origine génétique et une composition en acides aminés différentes.

Les observations réalisées sont reportées aux figures 15 à 21.

Figure 15 : Sous-unités de gluténine à H P M de Gamin (A), Maris Huntsman (D), et des grains de 1ère génération Gamin x Maris Huntsman (B) et Maris-Huntsman x Gamin (C) (Electrophorèse - S D S)

Figure 16 : Sous-unités de gluténine à H P M de Clément (A), Hardi (D), et des grains de 1ère génération Clément x Hardi (B) et Hardi x Clément (C) (Electrophorèse - S D S).

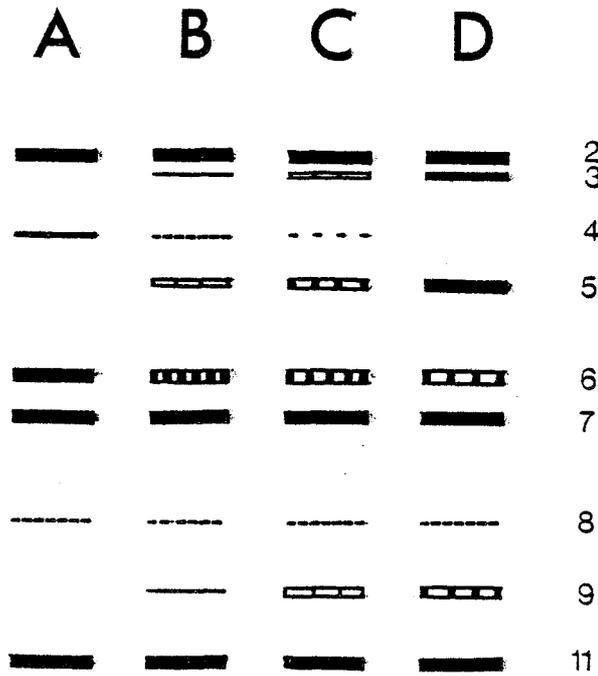
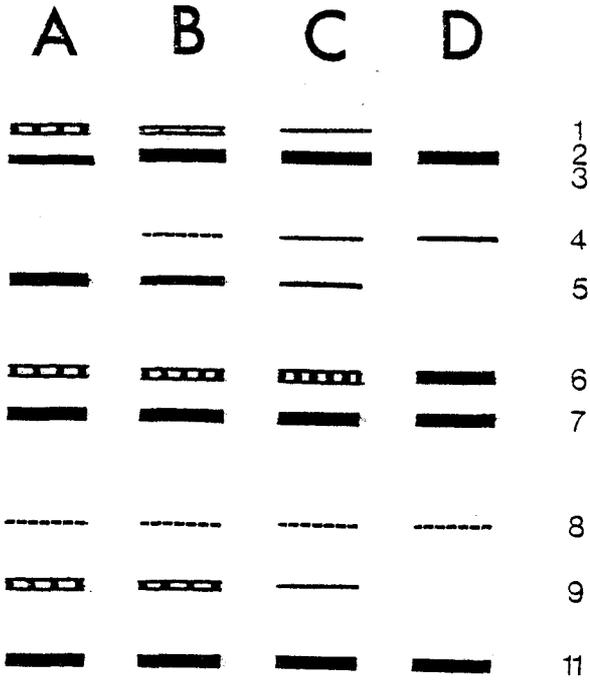


Figure 17 : Sous-unités de gluténine à H P M de Maris Huntsman (A),
Capitole (D) et des grains de 1ère génération Maris- Huntsman
x Capitole (B) et Capitole x Maris-Huntsman (C) (Electrophorèse-
S D S)

Figure 18 : Sous-unités de gluténine à H P M de Maris Huntsman (A), Hardi
(D), et des grains de 1ère génération Maris Huntsman x Hardi
(B) et Hardi x Maris-Huntsman (C) (Electrophorèse S D S).

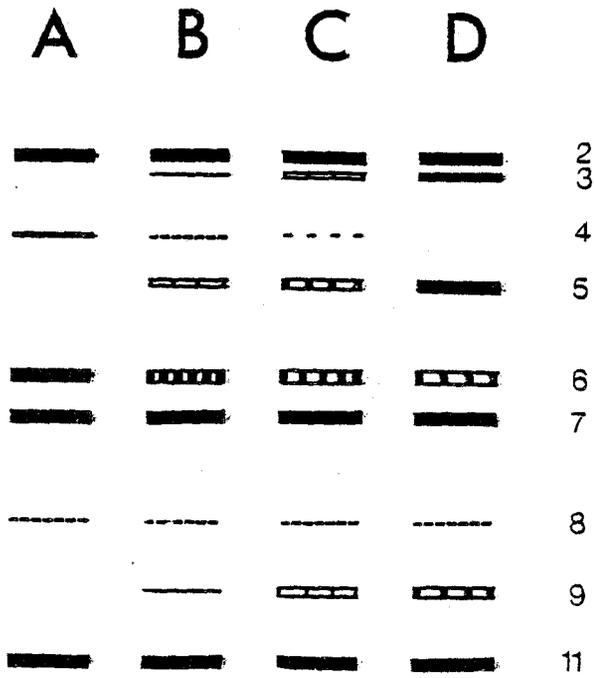
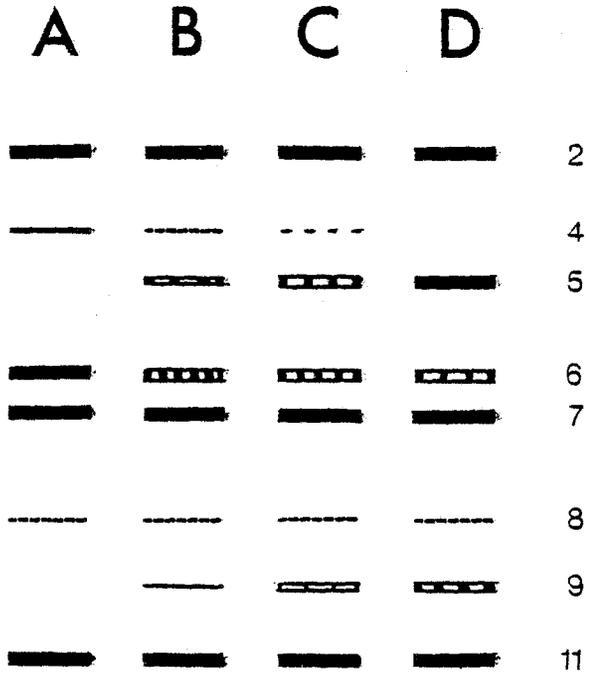
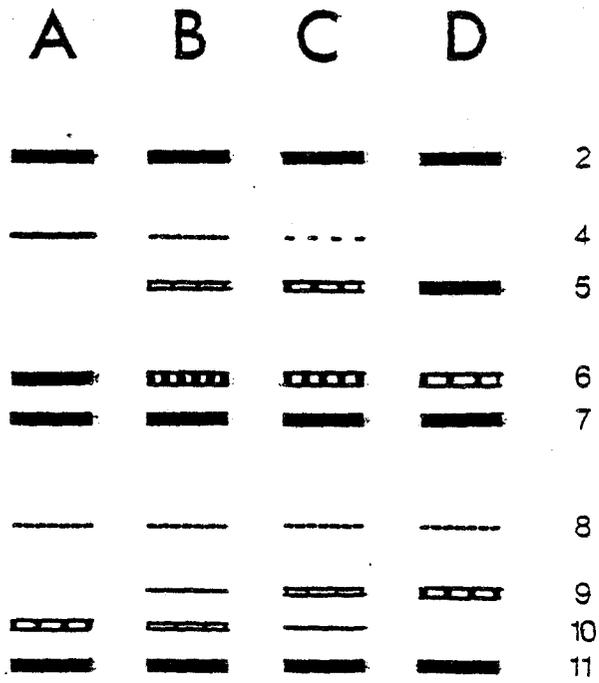
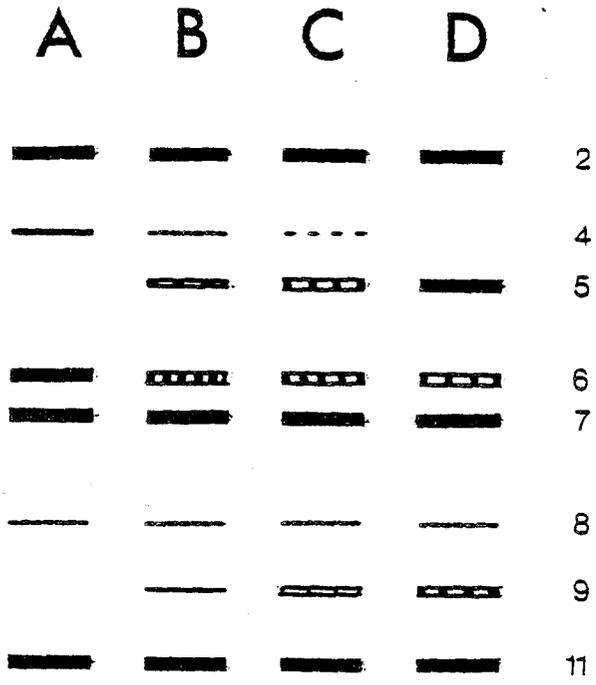


Figure 19 : Sous-unités de gluténine à H P M de Clément (A), Capitole (D) et des grains de 1ère génération Clément x Capitole (B) et Capitole x Clément (C) (Electrophorèse - S D S).

Figure 20 : Sous-unités de gluténine à H P M de Corin (A), Capitole (D) et des grains de la 1ère génération Corin x Capitole (B) et Capitole x Corin (C) (Electrophorèse - S D S).



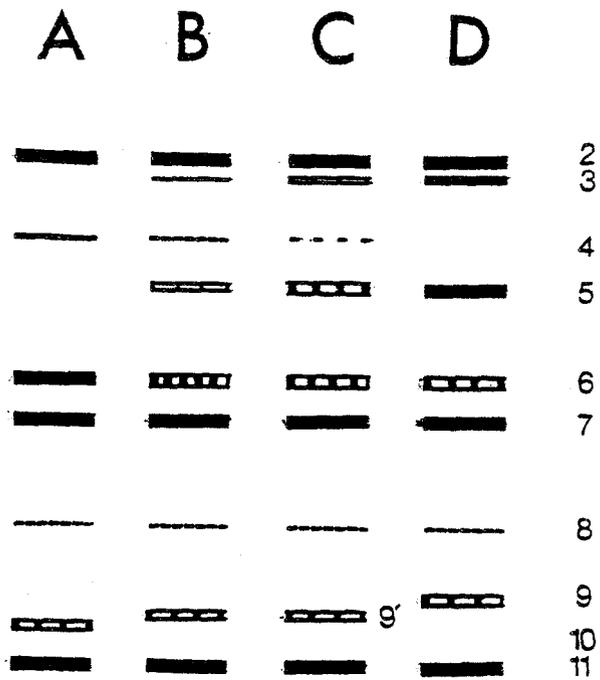


Figure 21 : Sous-unités de gluténine à H P M de Corin (A), Hardi (D) et des grains de 1ère génération Corin x Hardi (B) et Hardi x Corin (C) (Electrophorèse- S D S).



Dans chaque cas, les diagrammes A et D représentent les parents. Le diagramme B correspond au grain issu du croisement A x D, le diagramme C au croisement D x A.

Toute bande présente dans les deux parents est transmise aux descendants F1 réciproques. Pour des concentrations parentales identiques en un même composant, aucune différence quantitative n'est enregistrée avec le sens du croisement (voir, à titre d'exemple, les croisements Hardi - Clément ; figure 16, bandes 2, 7 et 11). Il n'en est pas de même pour un constituant existant en des teneurs variables aux générations Fo, répercutées dans les grains F1 réciproques (croisement Gamin - Maris - Huntsman ; figure 15, bande 6).

Quand une sous-unité de gluténine n'existe que dans un des parents, elle est, dans la grande majorité des cas, trouvée en F1. Sa teneur est alors sous la dépendance du sens du croisement. Ainsi, la Figure 15 illustre les détections réalisées sur les hybrides F1 issus de croisements entre Gamin (A) et Maris-Huntsman (D). La bande 1, présente uniquement dans Gamin, apparaît dans les hybrides F1 Gamin x Corin (B) et Corin x Gamin (C). Le gène codant la protéine s'exprime donc à la première génération issue du croisement parental, quel que soit le sens de celui-ci. Mais, l'ampleur de la synthèse varie selon le sens du croisement, en vertu des modalités de la fécondation et donc de la nature triploïde de l'albumen. Ainsi, dans les hybrides Gamin x Corin, elle est environ les 2/3 de celle enregistrée dans Gamin. Dans l'hybride réciproque, elle se réduit au 1/3.

Les mêmes conclusions découlent de l'analyse de la transmission des bandes :

- . 3 (voir, à titre d'exemple, les croisements Hardi-Clément, figure 16),
- . 4 (croisements Capitole - Maris Huntsman ; figure 17),
- . 5 (croisements Hardi - Maris Huntsman ; figure 18),
- . 9 (croisements Capitole - Clément ; figure 19).

L'étude des électrophorégrammes de Corin (figure 20 C), Capitole (20 D) et des hybrides réciproques Corin x Capitole (B) et Capitole x Corin (C) indique que la transmission de la bande 10, apportée par Corin, est dans ce cas, régie selon les mêmes règles. Toutefois, l'analyse des croisements entre Corin et Hardi (Figure 21 A et D) laisse transparaître une éventuelle interaction des gènes codant les bandes 9 et 10. En effet, dans les hybrides Corin x Hardi (B) et Hardi x Corin (C), la bande 9 peut être absente, ainsi que la 10, alors qu'apparaît un constituant de PM intermédiaire (noté 9').

L'analyse des hybrides obtenus par divers croisements réciproques permet donc les constatations suivantes :

1) En règle générale, il y a addition des sous-unités de gluténine apportées par les deux parents. Les gènes codant ces composants s'expriment donc en F1.

2) Les hybrides réciproques renferment qualitativement la même composition en constituants de gluténine. Seul, le sens du croisement effectué conditionne la quantité de protéine codée.

3) Les rapports de concentration en sous-unités, présentes initialement dans un seul des parents, indiquent que la quantité de protéine codée est sensiblement proportionnelle au nombre de gènes de structure correspondant.

B) GENERATION F2

Connaissant les principes de l'héritabilité des constituants gluténines à la génération F1, il devient intéressant de découvrir en F2 les différents types d'électrophorégrammes obtenus.

A ce niveau, nous avons réalisé, en raison du nombre d'échantillons à analyser et de la durée de l'extraction des gluténines, une étude

directe des protéines de la farine. De même, afin d'augmenter la résolution des bandes, une concentration en acrylamide de 7 % est préférée.

Nous avons plus particulièrement étudié les croisements suivants :

- . Capitole x Maris-Huntsman (figure 22) et croisement réciproque (figure 23)
- . Capitole x Clément (figure 24) et croisement réciproque (figure 25)
- . Hardi x Maris-Huntsman (figure 26) et croisement réciproque (figure 27).
- . Hardi x Clément (figure 28) et croisement réciproque (figure 29).

La modification du protocole d'analyse (extraction supprimée ; augmentation de la concentration en acrylamide) ne modifie pas la fiabilité de la méthode et apporte quelques précisions :

- . une bande de PM égal à 100 000 est décelée chez les cultivars analysés. Afin d'éviter toute confusion, avec les bandes préalablement envisagées, nous l'avons appelée bande x.
- . les sous-unités 6' (PM 95000) trouvée dans Hardi (figure 26 A, 27 B) et 6'' (PM 94000, similaire ou légèrement inférieur) détectée dans Capitole (figure 22A, 23B) se distinguent de la bande 6 présente dans Maris-Huntsman (figures 22 B et 23 A) et Clément (figures 24B et 25A)
- . une bande de PM égal à 75000 (bande y) est mise en évidence dans Clément.
- . la bande 9 apparaît dans les diagrammes de Maris-Huntsman et Clément.

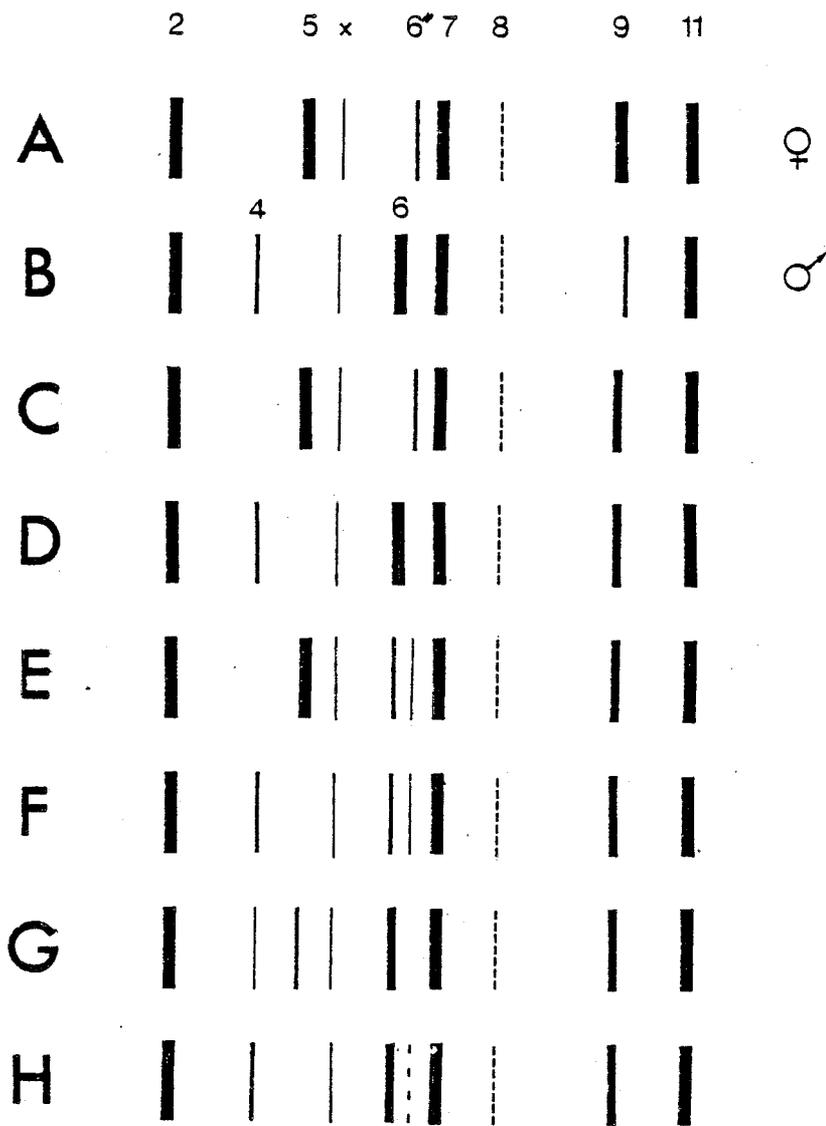


Figure 22 : Croisement Capitole (A) x Maris Huntsman (D). Différents types d'électrophorégrammes - S D S trouvés au sein de la population des grains de la 2ème génération analysée (C à H) (sous-unités de gluténine à H P M).



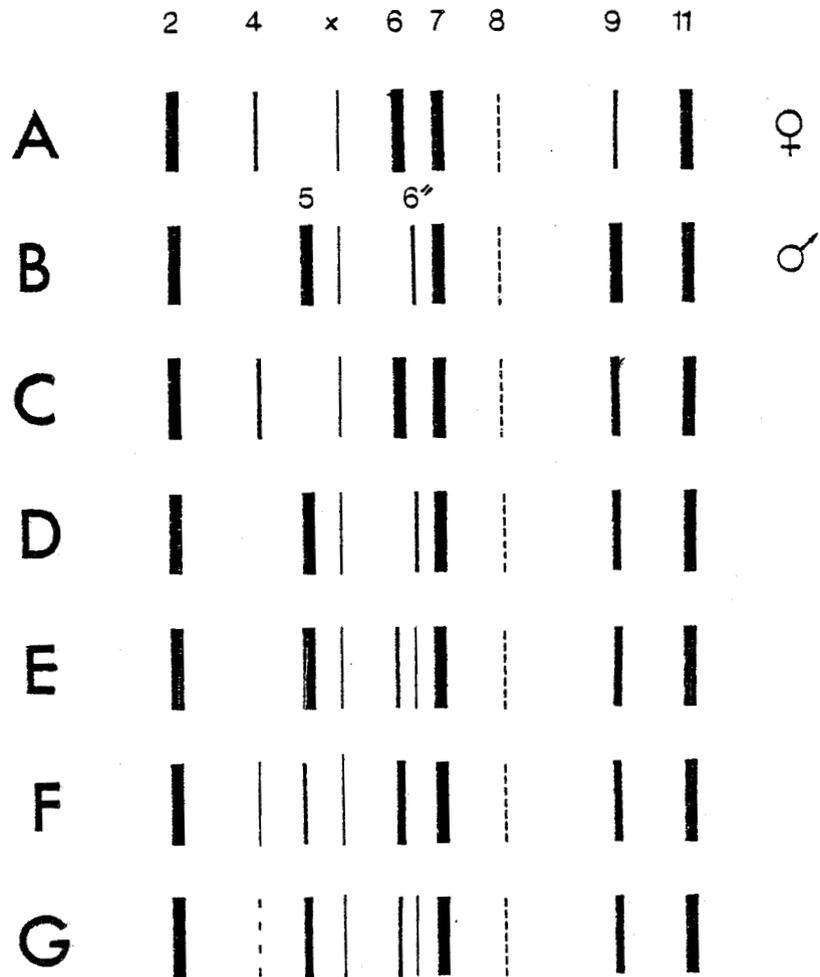


Figure 23 : Croisement Maris Huntsman (A) x Capitole (D). Différents types d'électrophorégrammes - S D S trouvés au sein de la population des grains de 2ème génération analysée (C à G) (sous-unités de gluténine à H P M).



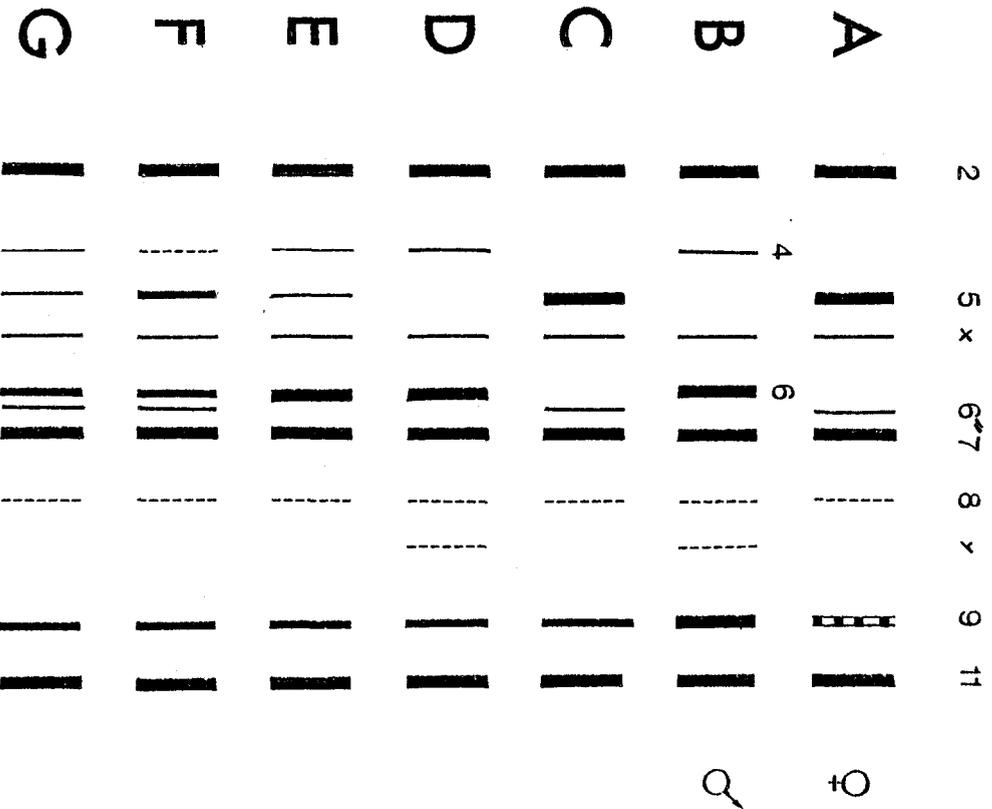


Figure 24 : Croisement Capitole (A) x Clément (D). Différents types
 d'électrophorogrammes - S D S trouvés au sein de la population
 des grains de 2ème génération analysée (C à G) (sous-unités
 de gluténine à H P M).



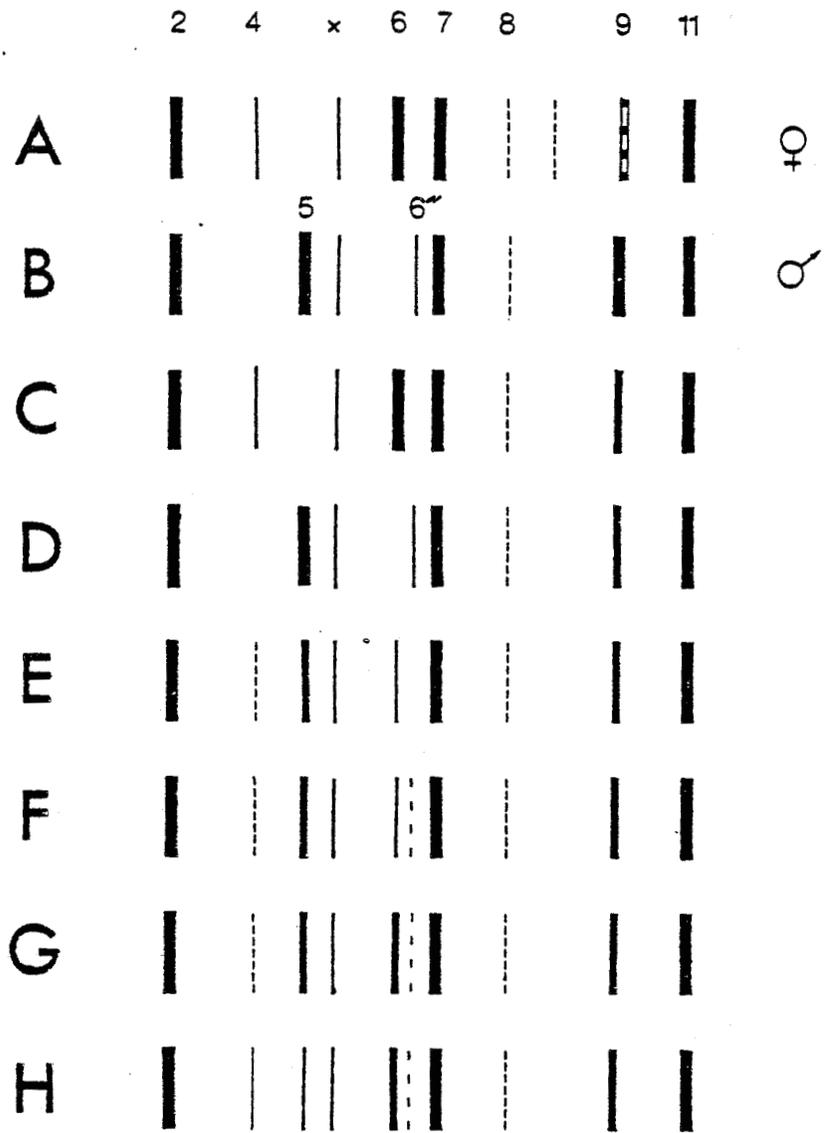


Figure 25 : Croisement Clément (A) x Capitole (D). Différents types d'électrophorogrammes - S D S trouvés au sein de la population des grains de 2ème génération analysée (C à H) (sous-unités de gluténine à H P M).



1) Croisements réciproques entre Capitole et Maris-Huntsman

Capitole (figures 22 A et 23 B) et Maris-Huntsman (figures 22 B et 23 A) ont des sous-unités de gluténine différentes : bandes 4, 5 et 6".

La variation trouvée dans la population des grains hybrides F2 est reproduite aux figures 22 C à H (Capitole x Maris-Huntsman) et 23 C à G (Maris-Huntsman x Capitole).

Certains grains (figures 22 C-D, 23 C - D) ont un diagramme électrophorétique identique à celui de l'un des parents.

Des descendants portent toutes les bandes des géniteurs, 4, 5, 6 et 6" (figure 23 G), c'est-à-dire qu'il y a additivité complète des composants parentaux.

D'autres, enfin, présentent une additivité incomplète : on trouve rassemblées quelques bandes d'origines "maternelles" et "paternelles" :

- bandes 4, 5 et 6 : figures 22 G et 23 F
- bandes 5, 6 et 6" : figures 22 E et H, 23 E et H.

2) Croisements réciproques entre Capitole et Clément

Comme précédemment, Capitole (figures 24 A et 25 B) et Clément (figures 25 A et 24 B) se différencient par les bandes 4, 5, 6 et 6".

Les différents types de diagrammes détectés par l'analyse de grains F2 sont représentés par les figures 24 C à G (Capitole x Clément) et 25 C à H (Clément x Capitole).

Ils sont soit identiques à celui de l'un des parents (figures 24 C et D, 25 C et D), ou montrent une additivité incomplète (figures 24 E et 25 E) ou complète des composants parentaux (figures 24 F et G, 25 F à H). Les concentrations relatives de quelques composants (n^{os} 4, 5, 6 et 6") permettent, dans ce dernier cas, de caractériser les diagrammes 24 F et G, de même que 25 F et H.

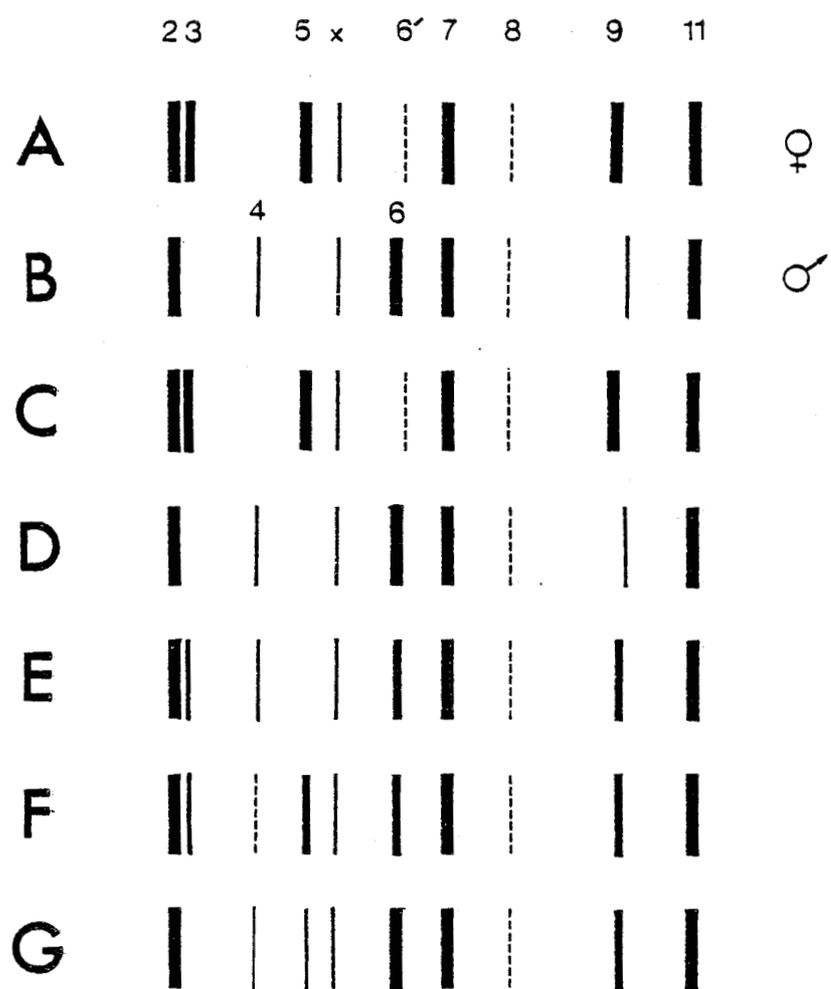


Figure 26 : Croisement Hardi (A) x Maris Huntsman (B). Différents types d'électrophorogrammes - S D S trouvés au sein de la population des grains de 2ème génération analysée (C à G) (sous-unités de gluténine à H P M).



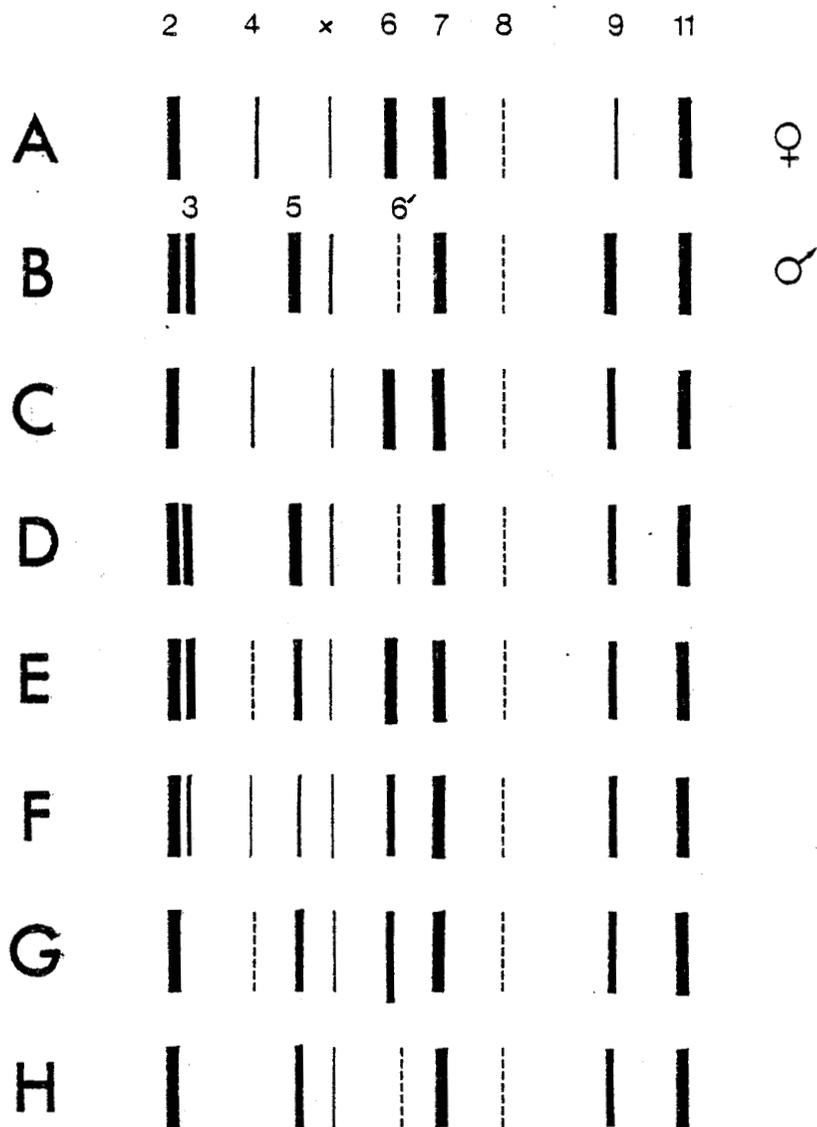


Figure 27 : Croisement Maris Huntsman (A) x Hardi (B). Différents types d'électrophorogrammes - S D S trouvés au sein de la population des grains de 2ème génération analysée (C à H) (sous-unité de gluténine à H P M).



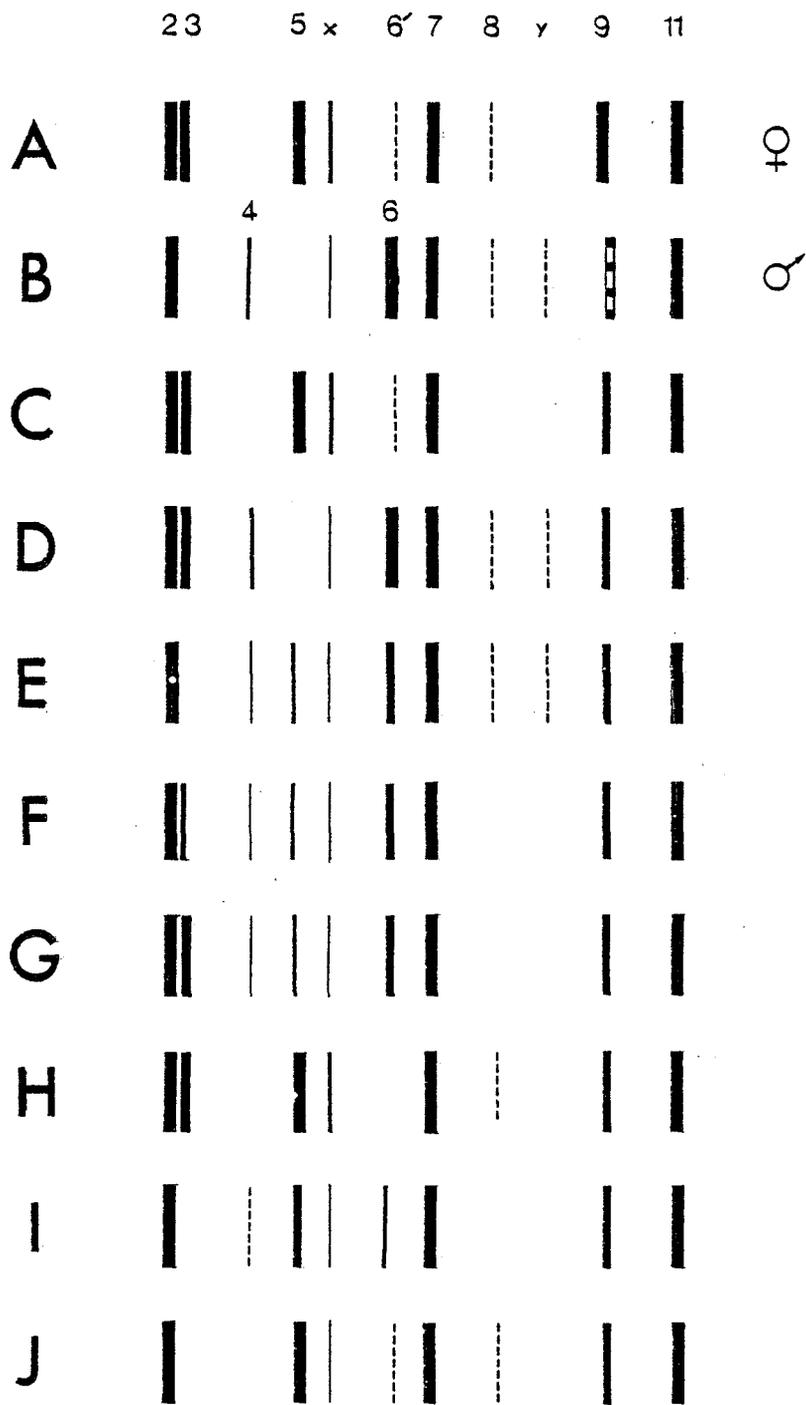


Figure 28 : Croisement Hardi (A) x Clément (D). Différents types d'électrophorogrammes - S D S trouvés au sein de la population des grains de 2ème génération analysée (C à J) (sous-unités de gluténine à H P M).



3) Croisements réciproques entre Hardi et Maris-Huntsman

La distribution des sous-unités de gluténine des géniteurs est montrée aux figures 26 A et 27 B (Hardi), 26 B et 27 A (Maris-Huntsman). Leur composition se différencie par les bandes 3, 4, 5, 6 et 6'.

Le croisement Hardi x Maris-Huntsman est représenté à la figure 26 (diagrammes des grains F2 aux figures 26 C à G), Maris-Huntsman x Hardi à la figure 27 (diagrammes des grains F2 aux figures 27 C à H).

On remarque :

- des diagrammes électrophorétiques semblables à celui de l'un des parents (Figures 26 C et D, 27 C et D) ou dépourvus d'une bande (figure 27 H).

- des diagrammes qui sont la combinaison des électrophorégrammes parentaux :

- . bandes 3, 4 et 6 : figure 26 E

- . bandes 4, 5 et 6, en concentrations variables : figures 26 G et 27 G.

- . bandes 3, 4, 5 et 6, en concentrations variables : figures 26 F, 27 E et F.

Nous n'avons jamais retrouvé de diagrammes sur lesquels il y a la totalité des bandes parentales, sans doute par suite d'une résolution insuffisante (bande 6 et 6' indissociées) ou d'une concentration trop faible de la sous-unité 6'.

4) Croisements réciproques entre Hardi et Clément

Les diagrammes des parents sont reproduits aux figures 28 A et 29 B (Hardi) ainsi que 28 B et 29 A (Clément) et sont identiques dans certains grains F2 (croisement Hardi x Clément : figure 28 C ; croisement

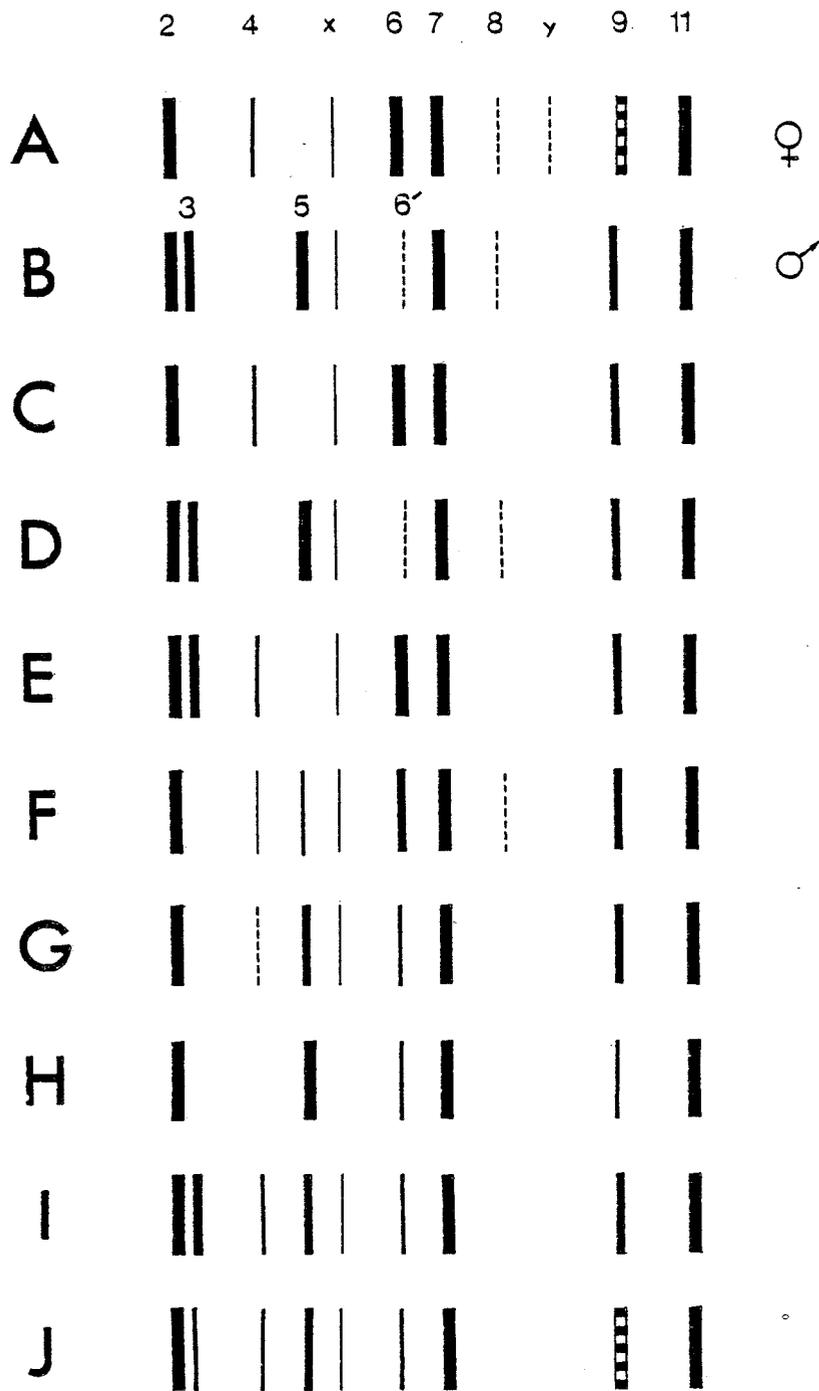


Figure 29 : Croisement Clément (A) x Hardi (B). Différents types d'électrophorogrammes - S D S trouvés au sein de la population des grains de 2ème génération analysée (C à J) (sous-unités de gluténine à H P M).



Clément x Hardi : figure 29 C et D). Des combinaisons de sous-unités parentales s'observent aussi :

- . bandes 3, 4 et 6 (figure 29 E)
- . bandes 4, 5 et 6 (figures 28 E et I, 29 F et G) en concentrations variables

: bandes 3, 4, 5 et 6, en différentes concentrations (figures 28 F et G, 29 I et J).

Le diagramme 24 J montre la composition d'un grain F2 possédant toutes les bandes du cultivar Hardi, exception faite de la sous-unité 3, tandis que, dans un cas, à la figure 28 H, la bande 6' n'est pas détectée, de même qu'à la figure 29 H, la bande x.

Dans un certain nombre de cas, la résolution insuffisante ne permet pas d'apprécier l'éventuelle présence du composant 6' (Figures 28 D à G, 29 E et F).

Une interaction de gènes peut être envisagée pour l'expression de la bande 8 détectée chez les géniteurs mais absente dans certains grains F2. Il semble pourtant plus probable de croire en la possibilité d'une migration, au même niveau, de polypeptides distincts, codés chez les deux parents en des loci différents.

5) Commentaires généraux sur les électrophorogrammes des grains F2

L'étude de l'ensemble de ces croisements conduit à certaines observations :

a) toute bande présente dans les parents peut apparaître dans les descendants F2. La concentration des sous-unités décelées dans un seul des géniteurs est égale, alors, en vertu des modalités de la méiose, de la fécondation et de la nature triploïde de l'albumen, au 1/3, 2/3 ou 3/3 de la concentration parentale. L'exemple en est donné par les bandes :

- . 3 (figure 29D, I, J etc...)
- . 4 (figures 27 A, E et F etc..-)

. 5 (figures 25 B, E et H etc...)

. 6 (figures 23 B, G et F etc..)

etc...

b) On note dans tous les grains F2 que les bandes 4 et 5 sont en concentrations dépendantes, ce qui suggère que ces deux protéines sont codées par des allèles situés en un même locus du chromosome 1 B. En effet, si nous admettons le raisonnement de PAYNE et al. (1980b), quatre types d'électrophorogrammes sont observés :

- la sous-unité 4 est seule présente, la sous-unité 5 étant absente (figure 23 C, à titre d'exemple)

- la sous-unité 5 est seule présente (figure 23 D)

- les sous-unités 4 et 5 existent de façon concomitante, mais à des niveaux d'intensité de 1/3 : 2/3 (figure 23 G) et 2/3 : 1/3 (figure 23 F).

Si A est le gène codant la sous-unité 4 et B celui codant pour la sous-unité 5, les albumens décrits ci-dessus ont un patrimoine génétique de type AAA, BBB, ABB, AAB. Ainsi, nous n'avons pas observé de formes AAABBB, AAABB etc..ou encore une absence totale et simultanée des bandes 4 et 5 qui prouveraient une recombinaison des gènes (situés sur le même chromosome) ou leur distribution au hasard (gènes localisés sur des chromosomes différents). L'absence de cultivars (homozygotes) portant les sous-unités 4 et 5, simultanément, confirme que les gènes contrôlant les synthèses de ces polypeptides peuvent être des allèles.

c) de nombreuses disjonctions des composants des diagrammes électrophorétiques parentaux se produisent. Elles entraînent l'apparition d'électrophorogrammes combinés au sein de grains de la population F2.

DISCUSSION

Les travaux portant sur la qualité boulangère des blés ont depuis longtemps tenté de rechercher le ou les constituants influençant le plus la valeur technologique. Le rôle des groupements soufrés, l'influence des protéines du gluten (les gliadines et, plus récemment, les gluténines) ont été étudiées.

1) CONTRIBUTION DES GROUPEMENTS SOUFRES

Les teneurs en groupements soufrés accessibles et totaux que nous déterminons dans les échantillons de blés hexaploïdes sont comparables à celles mentionnées par la plupart des auteurs (KONG et al., 1957 ; BLOKSMA, 1959 ; MATSUMOTO et HLYNKA, 1959 ; SOKOL et al., 1959 ; HIRD et YATES, 1960 ; SOKOL et al. 1960a ; SOKOL et al., 1960b ; BUSHUK, 1961 ; SULLIVAN et al., 1961 ; AXFORD et al., 1962 ; BLOKSMA, 1963 ; TSEN et ANDERSON, 1963 ; STEVENS, 1966 ; MECHAM, 1968 ; GODON, 1969 ; BLOKSMA, 1972 ; JONES et al., 1974 ; POPINEAU et GODON, 1976).

Les déterminations sont généralement réalisées par la méthode ampérométrique sur environ 2 g de farine disposés dans 100 ml de milieu de dosage. La concentration en protéines est donc de l'ordre de 220 mg pour 100 ml.

Selon l'ensemble de ces travaux, les groupements soufrés ont une fonction dans les propriétés physiques des pâtes boulangères. L'importance du rapport $\frac{SH}{SH + S-S}$ est soulignée par certains auteurs (BLOKSMA, 1958 ; GODON, 1969 ; POMERANZ, 1971 ; POPINEAU et GODON, 1976). Les groupements thiols, en s'oxydant, sont impliqués dans les modifications subies par les pâtes lors du pétrissage (BLOKSMA, 1959 ; POMERANZ, 1971 ; BURNOUF, 1977). L'action néfaste d'agents tels que la N-éthyl-maléimide qui nuit au développement de la pâte et diminue sa tolérance au pétrissage, en est une confirmation (JONES et al., 1974), ainsi que l'effet des réducteurs de ponts

disulfures qui diminuent la résistance au pétrissage (JONES et al., 1974). De notre côté, nous avons observé en microscopie électronique à balayage les détériorations occasionnées par l'adjonction de ces agents ; le réseau protéique perd sa cohésion, les pâtes deviennent suintantes après un traitement au sulfite de sodium ou à la N-éthyl-maléimide. Les groupements soufrés présentent donc une importance fonctionnelle indéniable, qui n'est cependant pas toujours évidente dans tous les dosages effectués.

Une relation précise entre teneur en groupements soufrés et valeur boulangère, est en effet difficile à établir (EWART, 1978). Nous constatons, par exemple que dans l'échantillonnage des cultivars de blé hexaploïde, les rapports disulfures accessibles les plus élevés correspondent à des blés impanifiables. ^{disulfures totaux} De même, nous avons détecté une quantité de -SH totaux supérieure dans des céréales impropres à la panification (avoine, blé dur), ce qui est d'ailleurs conforme aux observations de différents auteurs. Ainsi, les variétés de riz présentent des teneurs en -SH voisines de 2 μ moles/g de farine (soit 17 μ moles/g de protéine), très proches de celles que nous détectons chez l'avoine, et supérieures à celles mesurées dans les mêmes conditions de dosage chez les blés hexaploïdes (PRIMO et al., 1965). Pareillement, nous avons constaté que les blés durs sont plus riches en thiols que les blés tendres ce qui confirme les travaux de TSEN et ANDERSON (1963). Ces résultats semblent contradictoires mais peuvent s'interpréter, d'une part, par des compositions différentes en globulines, albumines, prolamines et glutélines, en admettant des teneurs en éléments soufrés différentes dans ces fractions. D'autre part, la méthode ampérométrique peut être mal adaptée au dosage par suite de l'accessibilité insuffisante des groupements soufrés (concentration trop élevée en protéines, choix du tampon). Ce sont les protéines de HPM qui présentent la plus faible solubilité dans le milieu de dosage et la plus forte proportion de groupements inaccessibles. En conséquence, les céréales qui en sont déficientes semblent avoir des teneurs supérieures. L'avoine, les blés durs, mais aussi le riz (PRIMO et al., 1965), peuvent appartenir à cette catégorie.

GRAVELAND et al. (1978) pensent d'ailleurs que le dosage ampérométrique des groupements soufrés des farines n'est pas fiable. La dissolution insuffisante des protéines, en trop forte concentration dans le tampon de dosage, et leur dénaturation incomplète, même en présence d'urée 8 M masqueraient 5/6 des groupements thiols. Ces auteurs préconisent, pour le dosage, des concentrations en protéine très sensiblement inférieures à celles choisies précédemment par les autres auteurs. Ceci peut, aussi, expliquer la relation inverse entre les teneurs détectées en ponts disulfures dans des farines de différents types et leur contenu protéique (AXFORD et al., 1962 ; TSEN et ANDERSON, 1963).

Les analyses électrophorétiques que nous avons réalisées indiquent que les gluténines des céréales sont plus ou moins complexes et suggèrent que le masquage des groupements soufrés est, effectivement, supérieur dans les blés tendres ce qui expliquerait les teneurs moindres que nous y détectons ainsi qu'EWART (1972).

En ce qui concerne les cultivars de blé hexaploïde, il faut admettre que la constitution des gluténines dont le degré de polymérisation est d'ailleurs variable (EWART, 1978), n'est pas suffisante pour modifier significativement l'accessibilité des groupements thiols.

En effet, les teneurs en groupements soufrés sont apparemment semblables et n'indiquent aucune relation précise avec la valeur boulangère.

Les fonctions attribuées aux groupements soufrés au cours de la panification semblent être, de fait, l'apanage d'une faible partie de ceux-ci. Si la proportion de thiols fonctionnels est de l'ordre de 30 %, selon JONES et al. (1974), pour TAKCHUK (cité par EWART, 1978), elle n'est que de 3 %. La proportion de disulfures actifs avoisinerait 10 % (BLOKSMA, 1972) ; 4 % seulement seraient impliqués dans la formation de la pâte (JONES et al., 1974).

On comprend alors pourquoi de faibles doses d'oxydants et de réducteurs sont suffisantes pour modifier les groupements thiols actifs. Au niveau des gluténines, elles modifieraient le degré de polymérisation

et diminueraient la tenacité (EWART, 1978).

S'il n'est pas facile de mettre en évidence une relation directe entre la teneur en groupements soufrés et la valeur boulangère des blés hexaploïdes, leur influence dans la panification n'est pas moins essentielle. Le rôle de certaines sous-unités de gluténine peut, en effet, s'expliquer par une position déterminée de ces groupements (PAYNE et al., 1981), ou par la présence de ponts disulfures très réactifs (YOSHIDA et al., 1980).

II) QUANTITE DE GLUTENINE ET VALEUR BOULANGERE

La quantité de gluténine d'une farine, exprimée soit en valeur absolue (HUEBNER, 1970 ; MATTERN et al., 1970 ; WALL, 1979), soit rapportée à celle des gliadines (BIETZ et al., 1975 ; WALL, 1979), a été également considérée comme un critère de la valeur boulangère. De même, la proportion entre gluténine I (PM supérieur à 5 millions) et gluténine II (PM compris entre 200 000 et 5 millions) pourrait jouer un rôle important (HUEBNER et WALL, 1976).

Les résultats que nous avons obtenus avec les cultivars français que nous avons analysés ne confirment cependant pas cette affirmation. Le rapport $\frac{\text{gluténine I}}{\text{gluténine II}}$ trouvé est toujours voisin de 0,5 ; et sans lien avec la valeur boulangère.

Pour réaliser l'extraction des protéines, nous avons opté comme la plupart des auteurs, pour le tampon A.U.C. préconisé par MEREDITH et WREN (1966). Mais, les dosages protéiques réalisés reflètent des taux d'extraction moins exhaustifs (74 %) que ceux trouvés par ailleurs : 98 % (BUSHUK et WRIGLEY, 1971), 95 % (MEREDITH et WREN, 1966) ou, 93 % (ORTH et BUSHUK, 1973a). Par contre, ils confirment les extrac-

tions à 72 % de rendement obtenues par DANNO et al. (1974) ainsi que PAYNE et CORFIELD (1979).

Les profils d'élution que nous avons obtenus pour des protéines extraites des cultivars français sont très semblables à ceux trouvés par HUEBNER et WALL (1976) avec des variétés nord-américaines et par PAYNE et CORFIELD (1979) ou HUEBNER et WALL (1980). Mais, nous n'avons pas confirmé l'importance quantitative de la gluténine I, (HUEBNER et WALL, 1976), peut-être en raison de la faiblesse du rendement d'extraction.

En accord avec PAYNE et CORFIELD (1979), nous pensons que l'insolubilité dans le tampon A.U.C. d'une fraction protéique (dans le cas présent, les gluténines) peut être liée à l'importance de son PM ou à sa constitution plus ou moins hydrophobe, en raison de l'arrangement spatial des sous-unités.

En panification, le rôle des gluténines de HPM est indéniable. Il est très vraisemblablement dû à la nature de leurs sous-unités (PAYNE et CORFIELD, 1979 ; HUEBNER et WALL, 1980).

III) ELECTROPHOREGRAMMES DES CONSTITUANTS GLUTENINES

A) RELATION AVEC LA VALEUR BOULANGERE

Notre travail suggère qu'il y a un lien entre la présence de certaines sous-unités de gluténine et la valeur boulangère. Cette relation est d'ailleurs soulignée par les recherches du groupe japonais animé par ARAKAWA. Ces chercheurs ont montré le lien qui existe entre la vitesse d'aggrégation du gluten isolé et les propriétés physiques des farines (ARAKAWA et al., 1974) ainsi que le rôle des gluténines (ARAKAWA et al., 1976) et l'influence essentielle des sous-unités de HPM (ARAKAWA et al., 1977). Selon ces auteurs, les différences quantitatives et qualitatives en composants de gluténine pourraient expliquer les

propriétés dans des blés à qualité différente .

Il faut toutefois constater que les analyses de gluténines de blés hexaploïdes, réalisées jusqu'à présent, ne permettaient pas d'établir de relation nette. Certes, la quantité de certaines sous-unités de HPM pourrait différer d'une variété à l'autre (BIETZ et WALL, 1972) mais, jusqu'à présent, seule la mauvaise qualité d'une variété (Nap Hal) pourrait s'interpréter par l'absence de deux sous-unités de HPM (BIETZ et WALL, 1975).

D'autre part, les différences observées dans les variétés nord-américaines n'avaient pas été mises en parallèle avec la valeur boulangère (ORTH et BUSHUK (1973a).

Si le nombre des sous-unités de HPM n'est pas en soit un critère de qualité, nous pensons, comme PAYNE (communication personnelle), que certaines d'entre elles peuvent promouvoir la qualité et d'autres lui nuire.

Les relations mises en évidence ici s'expliquent, selon nous, par deux faits principaux :

1) l'échantillonnage étudié est propre à notre pays et correspond aux caractéristiques de la sélection française ; les cultivars proviennent plus ou moins directement des mêmes parents (JOURDRIER, 1974). Le lot analysé présente donc une relative homogénéité génétique qui facilite à notre avis, la mise en évidence des liens de l'électrophorégramme et de la qualité boulangère. La diversité génétique est toutefois supérieure à celle des lignées étudiées par PAYNE et son équipe (PAYNE et al., 1979 ; PAYNE et al., 1980a ; PAYNE et al., 1981) et laisse penser que l'on peut généraliser (PAYNE, communication personnelle) à des blés d'origines génétiques diverses.

2) nous estimons que l'échantillonnage choisi donne un bon aperçu du large éventail de la qualité boulangère de cultivars européens. Au sein de ce lot de blés apparentés se trouvent des cultivars dont la valeur boulangère est proche de celle des variétés américaines et d'autres

adaptées à la panification anglaise.

Certes, la technique d'analyse choisie peut aussi avoir une influence. La résolution obtenue en électrophorèse sur tube (concentration en acrylamide de 5 ou 7 %) est, selon nous, supérieure à celle obtenue sur plaques (concentration de 5 %), système utilisé par ORTH et BUSHUK (1973a, b, 1974), BIETZ et WALL (1972) ou BIETZ et al. (1975). Dans ce cas, l'insuffisance de la résolution qui ne permet qu'une séparation médiocre des sous-unités de gluténine, peut, peut-être, expliquer les conclusions pessimistes auxquelles avaient abouti ces chercheurs (PAYNE, communication personnelle).

B) LES SOUS-UNITES DE GLUTENINE JOUENT-ELLES UN ROLE FONCTIONNEL ?

WASIK et BUSHUK (1975) suggèrent que les sous-unités de gluténine de HPM liées à la qualité pastière des blés durs ont un rôle fonctionnel.

Elles peuvent participer à la formation d'une fraction de gluténine insoluble, essentielle à la qualité (HUEBNER et WALL, 1974), ou contribuer à l'élaboration d'une conformation protéique favorable. De leur côté, PAYNE et al. (1979) estiment que les sous-unités de gluténine liées à la qualité permettent la constitution d'une masse de gluténine plus volumineuse et plus stable. Tel pourrait donc être le rôle des sous-unités 1, 3, 3', 3'', 5, 9 ou 10. Elles pourraient contribuer, à des degrés divers, à l'amélioration des propriétés physiques du gluten. La sous-unité 4 pourrait exercer une action inverse.

Ces polypeptides peuvent aussi être considérés comme des marqueurs génétiques. Les gènes codant pour ces constituants seraient donc liés plus ou moins étroitement à d'autres gènes intervenant directement dans le contrôle ou la régulation de la qualité boulangère. Ces deux hypothèses sont simultanément envisagées pour expliquer tant les relations entre certaines gliadines que les qualités technologiques des blés durs (DAMIDAUX et al., 1978 ; DAMIDAUX, 1979) ou des blés tendres (BRANLARD,

1979) que celles établies entre des gluténines et la qualité boulangère (PAYNE et al., 1979). Les chercheurs du "Plant Breeding Institute" de Cambridge sont cependant plus favorables à la première éventualité (PAYNE, communication personnelle) en raison de la part fonctionnelle fondamentale des gluténines. L'influence de certaines sous-unités pourrait s'expliquer par des particularités de leur séquence en acides aminés. La modification de la structure porterait à la périphérie de la molécule des groupements thiols susceptibles de créer des liaisons disulfures entre sous-unités voisines (PAYNE et al., 1981).

C) FIABILITE DE LA METHODE

1) Reproductibilité

Nos expériences nous ont permis de constater la bonne reproductibilité des électrophorogrammes réalisés à partir d'un même échantillon. De même, nous n'avons pas détecté de différences qualitatives dans les analyses de cultivars s'étant développés en différentes régions. Ceci confirme ce qu'avaient observé ORTH et BUSHUK (1973a) sur des diagrammes électrophorétiques unidimensionnels. La synthèse des gluténines apparaît donc déterminée génétiquement comme celle des gliadines (BOURDET et al., 1963 ; LEE and RONALDS, 1967 ; FEILLET et BOURDET, 1967 ; AURIAU et al., 1976) ou des avénines (KIM et al., 1979). Toutefois, nous n'avons pas étudié, comme AURIAU et al. (1976), l'influence de certains traitements. Par une méthode très fine d'analyse, on ne peut donc exclure que les conditions culturales puissent modifier la valeur boulangère par suite de perturbations dans la synthèse des gluténines comme c'est le cas pour les gliadines (BRANLARD, communication personnelle).

2) Résolution

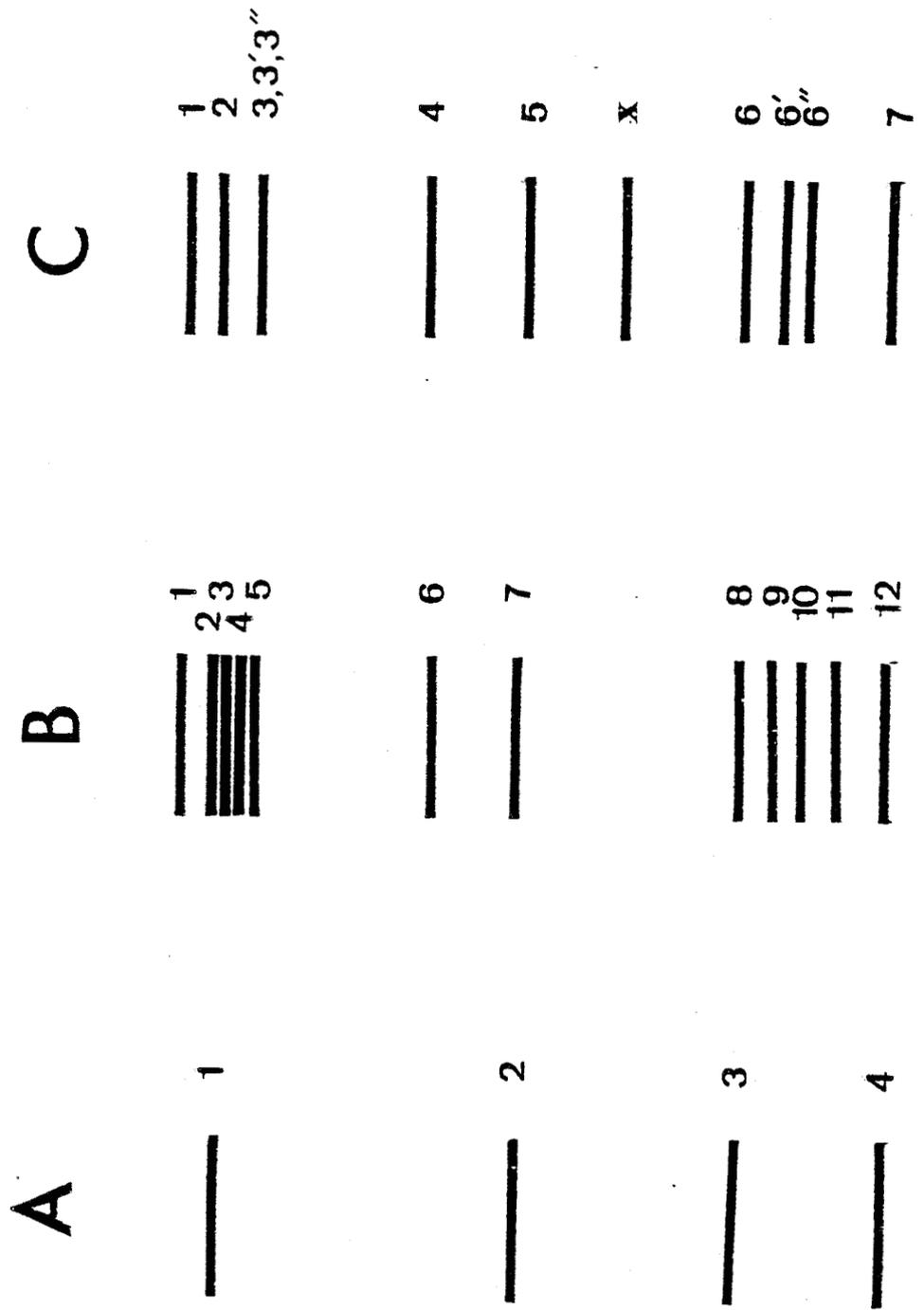
La finesse de la résolution des électrophorogrammes est, sans conteste, un élément déterminant. La mise en évidence d'une relation entre la présence d'une sous-unité et la valeur boulangère exige la séparation parfaite des constituants du mélange analysé. A la figure 30 nous proposons une étude comparée entre les diagrammes électrophorétiques trouvés en A, par ORTH et BUSHUK (1973b) (cultivar Chinese Spring), en B

Figure 30 : Diagrammes électrophorétiques obtenus par les méthodes de ORTH et BUSHUK (1973 b) (cv. Chinese Spring) (A), PAYNE et al. (1980 b) (B) et détectés dans nos conditions de travail (C). ORTH et BUSHUK signalent dans certains cultivars le dédoublement de la bande 1.

Dans les diagrammes A et B, la mobilité relative des sous-unités n'est pas respectée afin de mettre en évidence de possibles analogies entre les différentes bandes.

La numérotation présentée est celle adoptée, jusqu'à présent, par les auteurs.

diagrammes électrophorétiques comparés



par PAYNE et al. (1980b) et, en C, les nôtres. Les diagrammes B et C rassemblent l'ensemble des bandes de gluténine détectées dans plusieurs cultivars.

L'analogie de certaines bandes (2, 5, 6, 7) est facilement démontrable dans la mesure où ces études portent sur une même variété : Chinese Spring. Pour d'autres bandes, il est plus difficile d'établir leur identité ; en effet, une même bande peut présenter, dans un système de résolution différent (en particulier, concentration en acrylamide changée), une migration différente, semblant donc avoir un PM différent (PAYNE, communication personnelle). Toutefois, le rôle favorable des bandes 1, 3, 3', 3'' et 5, et l'effet néfaste de la bande 4, permettent d'établir une analogie avec des sous-unités détectées par PAYNE et ayant une action comparable. La détermination du bras chromosomique portant le gène qui code certaines bandes (2, 5, 6 et 7) confirme ces analogies.

L'étude comparée du nombre de sous-unités trouvées par les différents auteurs indique que, si nous avons mis en évidence 10 bandes distinctes de gluténine réduite à PM supérieur ou égal à 92000, PAYNE et al. (1980a et b) en ont détecté 12. La diversité génétique des cultivars choisis par PAYNE et al., mais, surtout, le pouvoir résolutif de la technique d'électrophorèse sont, à notre avis, responsables de cette différence. PAYNE et al. (1980 a et b) utilisent en effet un système d'électrophorèse (sur plaque verticale) comportant un gel de concentration à 3 % d'acrylamide et un gel de séparation à 17 % en acrylamide. Le gel de concentration ainsi que la réticulation supérieure du gel de séparation permettent une finesse de séparation plus importante (PAYNE, communication personnelle).

La résolution par notre méthode est cependant meilleure que celle obtenue par BIETZ et WALL (1972), ORTH et BUSHUK (1973 a et b) et BIETZ et al. (1975) qui travaillent sur plaques à 5 % en acrylamide.

La présence d'un gel de concentration, de même que l'utilisation d'une teneur en acrylamide élevée (supérieure à 7 %) et dont l'optimum serait de 10 % (PAYNE, communication personnelle) sont peu compatibles avec l'électrophorèse en tube pour des raisons d'homogénéité du système de séparation et de démoulage, ultérieurement à l'électrophorèse. Nous

enregistrons des imperfections dans la résolution des bandes 3, 3' et 3'', ainsi qu'une mauvaise séparation des sous-unités 6, 6' et 6'' lors de l'analyse des grains de 2ème génération. La mise en évidence de corrélations entre la valeur boulangère et la présence de sous-unités de gluténine, la détection des bandes codées par des allèles (PAYNE et al., 1980a, 1981) exigent une méthode d'analyse d'une très grande finesse.

D) ROLES DES DIFFERENTS GENOMES

Le génôme D est essentiel à l'expression des propriétés technologiques des farines (KERBER et TIPPLES, 1969 ; DRONZEK et al., 1970). C'est particulièrement le chromosome 1 D qui semble porteur de gènes contrôlant la qualité boulangère (WELSH et HEHN, 1964), même si l'étude de lignées de substitution met en relief la complexité de l'influence des autres chromosomes (WELSH et al., 1968 ; DOEKES et BELDEROK, 1976).

Le génôme D est responsable de la synthèse de certaines protéines du gluten (BOYD et al., 1969). Son absence dans les blés tétraploïdes se traduit, sur les électrophorogrammes des gluténines réduites, par la disparition de trois sous-unités et la moindre concentration d'une quatrième, comme l'ont montré ORTH et BUSHUK (1973c). L'étude de deux cultivars de blé dur, (Wells, Agathé), permet de constater l'absence des bandes 2 et 3, sous-unités à HPM, celle de la bande 10 ainsi que la quantité réduite de la bande 7. L'analyse des lignées aneuploïdes de Chinese Spring nous conduit à préciser que, dans cette variété, les bandes 2 et 7 sont codées par un gène localisé sur le long bras du chromosome 1D, comme l'ont établi, par ailleurs, ORTH et BUSHUK (1974) puis BIETZ et al. (1975) pour deux sous-unités de PMs comparables. Nous mettons aussi en évidence que ces deux sous-unités sont présentes dans Aegilops squarrosa (porteur du génôme D), mais absentes dans Triticum monococcum (génôme A) et dans Aegilops speltaïdes (génôme B). Dans le système de résolution utilisé (concentration en acrylamide égale à 5 %), nous établissons que le long bras du chromosome 1B porte un gène qui code la sous-unité 5, ainsi qu'une sous-unité de la bande 6 (intensité de coloration plus faible), ce qui est

en accord avec les résultats de BIETZ et al. (1975). Les lignées de substitution chromosomique, étudiées par PAYNE et al. (1980b), paraissent autoriser la généralisation de ces données, initialement mises en évidence dans Chinese Spring.

Par l'étude des lignées aneuploïdes de Chinese Spring, nous montrons que, dans ce cultivar, les sous-unités de HPM sont codées par les chromosomes homéologues du groupe 1. En effet, ce sont les chromosomes 1B et 1D qui sont impliqués dans les synthèses de ces composés. Toutefois, aucune précision n'est apportée sur le contrôle des bandes supplémentaires détectées dans d'autres cultivars. Le chromosome 1A pourrait exercer un rôle précis puisque l'analyse de lignées monosomiques et de lignées de substitution lui attribue la responsabilité de la synthèse d'une sous-unité de HPM, comparable à la sous-unité 1 détectée chez Rex, Gamin et Ducat (PAYNE et al., 1980 a et b). Si l'on compare nos résultats avec ceux de PAYNE et al. (1980b), les composants 3, 3', 3'', 6' et 6'' pourraient être codés par le chromosome 1 D. De même, la sous-unité 4 serait contrôlée par le chromosome 1B. Il faudra toutefois démontrer que les constatations de PAYNE et al. (1980 a et b) sont généralisables à la totalité de l'échantillonnage.

Si certaines bandes aux PMs moyens sont sous le contrôle du chromosome 4 D (BIETZ et al., 1975), il semble toutefois établi que l'ensemble des synthèses des sous-unités de gluténine à HPM (PM supérieur à 92000 dans notre système de résolution) est sous la dépendance des chromosomes homéologues du groupe 1. Il en est de même pour les gliadines, si ce n'est la participation complémentaire des chromosomes du groupe 6 (BOYD et LEE, 1967 ; SHEPHERD, 1968 ; WRIGLEY et SHEPHERD, 1978 ; KASARDA, et al., 1976 ; SASEK et FOSNER, 1977 ; MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979).

Ces résultats soulignent l'importance des chromosomes appartenant à ces deux groupes dans l'expression des protéines du gluten responsables de la qualité boulangère. Par contre, il est montré que les chromosomes 4B, 7A et 7D contrôlent des gliadines à faible PM (SALCEDO et al., 1980). Mais, ces protéines ne jouent qu'un rôle mineur en panification.

E) TRANSMISSION GENETIQUE DES SOUS-UNITES

Nous établissons qu'en règle générale, tout composant à HPM présent dans un des parents, est transmis aux grains de 1ère génération ; le sens du croisement détermine sa concentration en raison des modalités de la fécondation et de la triploïdie de l'albumen.

Il est par ailleurs montré que l'héritabilité en F1 des prolamines, qu'il s'agisse des gliadines (MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979), des hordeines (SHEWRY et al., 1978) ou des avénines (KIM et al., 1978), suit le même mode.

Nous pensons qu'il faut considérer avec prudence les possibles interactions génétiques signalées dans le croisement Hardi x Corin et son croisement réciproque. Une diminution du PM, et donc une migration supérieure de la bande 9 de Hardi, peuvent être expliquées par un clivage protéolytique (MOSSE, 1973 ; BURR et al., 1978) réalisé "in vivo" exclusivement dans l'hybride, par un enzyme codé par un gène appartenant au patrimoine génétique de Corin. La synthèse de la bande 10 pourrait être réprimée par Hardi ; on peut aussi envisager que sa migration soit ralentie du fait de la présence d'une sous-unité à PM voisin, ne laissant alors apparaître sur le diagramme qu'une seule bande. Une amélioration de la finesse de séparation des bandes permettrait de mieux cerner ce problème.

L'apparition d'une protéine absente dans les géniteurs est considérée comme un phénomène rare, rapporté à notre connaissance que chez les avénines (KIM et al., 1978). Les auteurs expliquent ce phénomène par la dérèpression, dans l'hybride, d'un gène parental.

Exception faite des constituants 9 et 10, (qui pourraient être des composants gliadines d'HPM, d'après une communication personnelle de PAYNE), les diagrammes électrophorétiques des grains de 1ère génération montrent une addition des sous-unités de gluténine apportées par les géniteurs. Il en est ainsi pour les prolamines (SOZINOV et al., 1970 ; SOZINOV et al., 1974 ; MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979). D'autre part,

comme chez les autres protéines de réserve, l'intensité de synthèse d'un constituant est liée au nombre de dose du gène de structure correspondant. Les gènes maternels jouent donc, dans les grains de 1ère génération, un rôle majeur.

En F2, certains grains ont une constitution identique à celle de l'un des géniteurs tandis que d'autres possèdent des composants apportés par les deux parents. Les sous-unités de gluténine parentales se transmettent donc en F2. On observe une redistribution des bandes apportées par les géniteurs mâle et femelle. Ces disjonctions peuvent s'accompagner, suivant le nombre de gènes présents, d'une variation dans le niveau d'intensité des synthèses protéiques. Des observations similaires sont faites chez les gliadines (DOEKES, 1973 ; SOZINOV et al., 1974 ; MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979), les hordeïnes (SHEWRY et al., 1978) ou les avénines (KIM et al., 1978). PAYNE et al. (1979, 1980a, 1981), qui étudient la valeur boulangère de lignées F5 ou F6 en fonction de la présence et de la concentration des bandes parentales, appuient leur démonstration sur ce même phénomène sans toutefois le discuter.

L'état d'avancement de nos études sur le déterminisme génétique des sous-unités, l'insuffisance de la résolution de certaines bandes ne nous permettent pas d'établir avec certitude la présence d'allèles d'un même gène codant pour des sous-unités de HPM différentes. Cependant, il nous semble envisageable que les composés 4 et 5 puissent répondre à cette caractéristique, comme nous l'avons vu précédemment. L'existence d'allèles d'un même gène gouvernant la synthèse de gliadines est déjà évoquée. Ainsi en est-il du déterminisme des bandes 45 et 42, détectées dans les blés durs et dont la présence est corrélée à la qualité pastière (DAMIDAUX et al., 1978 ; AUTRAN, 1979). Dans les blés tendres, on décrit, de même, des "blocs" de gliadines (DOEKES, 1973), ou ensembles de composants, se comportant comme des allèles à hérédité de type co-dominant (BAKER et BUSHUK, 1978 ; MECHAM et al., 1978 ; AUTRAN, 1979). Des hordéïnes présentent le même type d'héritabilité (ORAM et al., 1975 ; SHEWRY et al., 1978). Dans le cas des gluténines de blé tendre, un cas

d'allélisme est clairement établi pour deux sous-unités de HPM portées par les variétés Chinese Spring et Holdfast (PAYNE et al., 1980b) mais, des analyses plus complètes étendent l'existence des allèles à deux gènes des chromosomes 1D et 1B (PAYNE et al., 1981).

L'hypothèse que nous formulons sur le phénomène d'allélisme concernant les bandes 4 et 5 est compatible avec ces résultats. Il faut alors noter que ces deux constituants protéiques sont synthétisés avec une intensité différente. La concentration de la bande 4 est, à en juger par sa coloration au bleu de coomassie, sensiblement inférieure à celle de la bande 5. L'expression différente des allèles transparaît tant dans les géniteurs que dans les grains de 1ère et 2ème générations. Des cas similaires sont révélés pour l'estérase E1 (SCHWARTZ, 1962), l' α amylase (CHAO et SCANDALIOS, 1971) chez le maïs, comme pour des protéines hydrophobes de l'albumen de blé dur (SALCEDO et al., 1978). Les teneurs différentes en constituants 4 et 5 peuvent être attribuées soit à des modifications touchant les gènes de structure, soit à l'influence de gènes régulateurs ou modificateurs propres à l'un ou l'autre des parents. Comme le soulignent justement SALCEDO et al. (1978), ceux-ci seraient étroitement liés au gène de structure puisque leur action se perpétue, dans les mêmes conditions, dans la descendance. Si la relation entre la présence de ces bandes et la valeur boulangère se confirme, il faudra tenter d'établir l'origine des différences dans les propriétés fonctionnelles de ces deux sous-unités. Le niveau d'intensité de la synthèse entre-t'il en ligne de compte ? Faut-il envisager des compositions en acides aminés légèrement dissemblables qui modifieraient la conformation quaternaire des molécules (PAYNE et al., 1981) ?

Des analyses ultérieures pourraient permettre de révéler les éventuelles combinaisons d'allèles, responsables des synthèses des sous-unités de gluténine à HPM des cultivars français.

Des tests d'appréciation de la qualité boulangère des lignées actuellement en cours de multiplication seront entrepris. On recherchera d'éventuelles corrélations entre la présence de certains composants des

cultivars français et l'aptitude technologique. Les travaux poursuivis par PAYNE (communication personnelle) permettent de nourrir des espoirs raisonnés sur la réussite de l'entreprise.

CONCLUSION

Le marché français des semences offre une panoplie de cultivars de blé présentant chacun leur particularité. Du point de vue de la qualité boulangère, une gamme très large est présentée. Toutefois, le choix des emblavements montre une préférence marquée pour les cultivars ayant les meilleurs rendements potentiels dans des conditions de culture déterminées. La sélection doit se fixer pour objectif d'offrir des créations alliant, au mieux, rendement et qualité technologique.

Pour atteindre ce but, il est primordial de distinguer les constituants de la farine dont la nature peut influencer le comportement physique des pâtes boulangères. Au cours des différentes étapes de la panification, certaines qualités technologiques sont appréciées : l'élasticité, la ténacité, l'extensibilité, la résistance au pétrissage de la pâte. La microscopie électronique à balayage révèle les bouleversements occasionnés par l'hydratation. La structure protéique rigide de la farine s'estompe pour faire place à un réseau souple et fin. C'est en réalité un complexe auquel participent l'amidon et les protéines du gluten, gliadines et gluténines. A ce stade, les farines de blé "impanifiable" donnent des pâtes collantes et suintantes, dites non "machinables". A la suite du pétrissage et de l'oxygénation qui en découle, le réseau protéique gagne en résistance et conserve de bonnes caractéristiques de visco-élasticité. La trame protéique doit, de plus, acquérir une fermeté suffisante pour contenir, lors des étapes de fermentation et de cuisson, les gaz emmagasinés dans les alvéoles. Le pain augmente alors de volume.

Compte tenu de ces éléments, comment interpréter les comportements si différents des cultivars de blé tendre commercialisés en France ? Les observations en microscopie électronique à balayage indiquent que les gluténines se présentent sous la forme de filaments. Nous pensons qu'ils réagissent aux tensions imposées par le pétrissage en s'orientant parallèlement au sens d'étirement de la pâte. Les études des pâtes en cours de pétrissage le confirment. Nous estimons que les

gluténines s'apparentent à une "charpente" protéique chargée d'apporter à la trame sa ténacité et sa résistance. Elle est constituée par une association de fractions à haut, moyen et faible PMs. Les proportions relatives de ces constituants peuvent varier d'un cultivar à l'autre et conférer à cette masse de gluténine, de même qu'à la pâte boulangère, une résistance plus ou moins grande. Sur le squelette de gluténine, s'insèrent les gliadines, sous forme de feuillets, ainsi que les grains d'amidon souvent encastrés dans la trame protéique. L'association gluténine-gliadine influence les propriétés de visco-élasticité. La nature des gliadines et de l'amidon, peut expliquer le niveau de qualité de certains cultivars.

Les liaisons entre protéines, la réticulation de la trame protéique, s'organisent grâce aux groupements soufrés. L'accessibilité nous semble inversement proportionnelle au degré de polymérisation des protéines. Leur rôle est essentiel en panification. Le travail de la pâte s'accompagne d'une oxydation des groupements thiols tandis que des échanges de liaisons entre groupements soufrés peuvent se produire par mouvements Browniens.

A notre avis, la valeur boulangère dépend essentiellement de la nature des gluténines. Certes, elles ne représentent que 5 % environ de l'ensemble des constituants de la farine. Mais elles constituent une charpente qui donne une "force" accrue au "tissu gluténique". Certes, sa structure peut varier d'un cultivar à l'autre. Ces variations ne concernent pas les sous-unités de faible PM mais les composants de HPM. Seize types de combinaisons sous-unitaires ont été mis en évidence. Des relations entre la qualité boulangère et la présence de certaines sous-unités ont été soulignées. Si certains constituants paraissent jouer un rôle néfaste ou nul, d'autres semblent présenter une action favorable. Sont-ils de simples marqueurs génétiques de la qualité boulangère ou ont-ils un rôle fonctionnel ? De légères différences de la composition en acides aminés peuvent être invoquées ; elles entraîneraient une modification de la structure quaternaire du polypeptide.

L'étude de la composition en sous-unités de gluténine des grains de 1ère et 2ème génération montre que ces composants sont transmis dans les descendants. En F1, le sens du croisement détermine l'importance des constituants présents dans un seul des parents.

Le nombre de doses du gène de structure règle l'intensité de la synthèse des polypeptides. Des disjonctions par rapport aux compositions parentales s'observent dans des grains de deuxième génération. Cette redistribution des constituants permet des études ultérieures de corrélations entre la présence de certaines sous-unités et la valeur boulangère des lignées créées.

Les premiers résultats indiquent que l'électrophorèse des gluténines réduites peut être un outil très efficace de la sélection des nouvelles variétés de blé. Si les relations entre les caractéristiques du diagramme électrophorétique des gluténines réduites, la qualité du gluten et donc la force boulangère se confirment, les sélectionneurs auront à leur disposition un microtest leur permettant d'apprécier à un stade précoce la qualité technologique intrinsèque des lignées.

BIBLIOGRAPHIE

- ARAGONCILLO, C., RODRIGUEZ-LOPERENA, M.A., SALCEDO, G., CARBONERO, P. GARCIA-OLMEDO, F., 1978.- Influence of homoeologous chromosomes on gene-dosage effects in allohexaploid wheat (Triticum aestivum L.) Proc. Natl. Acad. Sci., 75, 1446-1450.
- ARAKAWA, T., MORISHITA, H., YONEZAWA, D., 1976.- Aggregation behaviors of glutens, glutenins and gliadins from various wheats. Agric. Biol. Chem., 40, 1217-1220.
- ARAKAWA, T., MATSUMOTO, S., YONEZAWA, D., 1974.- Determination of aggregation velocity of wheat gluten particles by turbidimetry. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 48, 255-259.
- ARAKAWA, T., YONEZAWA, D., 1975.- Compositional difference of wheat flour glutens in relation to their aggregation behaviours. Agric. Biol. Chem., 39, 2123-2128.
- ARAKAWA, T., YOSHIDA, M., MORISHITA, H., HONDA, J., YONEZAWA, D., 1977.- Relation between aggregation behavior of glutenin and its polypeptide composition. Agric. Biol. Chem., 41, 995-1001.
- ARANYI, C., HAWRYLEWICZ, E.J., 1968.- A note on scanning electron microscopy of flours and doughs. Cereal Chem., 45, 500-502.
- ARANYI, C., HAWRYLEWICZ, E.J., 1969.- Applications of scanning electron microscopy to cereal specimens. Cereal Sci. Today, 14, 230-233.
- 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, ~~amylases~~, estérases, peroxydases et phosphatases acides du blé. Ann. Amélior. Plantes, 26, 51-66.
- AUTRAN, J.C., 1975.- Nouvelles possibilités d'identification des variétés françaises de blé par électrophorèse des gliadines du grain. Ind. Agric. Alim., 9-10, 1075-1094.
- AUTRAN, J.C., 1979.- Déterminisme génétique de certains composants électrophorétiques gliadines. Journée sur la biochimie-génétique du blé 24 Avril ENSMIC Paris.
- AXFORD, D.W.E., CAMPBELL, J.D., ELTON, G.A.H., 1962.- Disulphide groups in flour proteins. J. Sci. Food Agric., 13, 73-78.
- BAKER, R.J., BUSHUK, W., 1978.- Inheritance of differences in gliadin electrophoregrams in the progeny of neepawa and pitric 62 wheats. Can. J. Plant. Sci., 58, 325-329.
- BECKWITH, A.C., WALL, J.S., 1966.- Reduction and reoxydation of wheat glutenin. Biochim. Biophys. Acta, 130, 155-162.

- BENESCH, R., BENESCH, R.E., 1948.- Amperometric titration of sulphhydryl groups in amino acids and proteins. Arch. Biochem. Biophys., 19, 35-45.
- BENESCH, R.E., LARDY, M.A., BENESCH, R., 1955.- The sulphhydryl groups of crystalline proteins. I. Some albumins, enzymes, and hemoglobins. J. Biol. Chem., 216, 663-676.
- BERNACKA, T., KACZKOWSKI, J., LISS, W., SERWATOWSKA, J., 1977.- The fractional composition of wheat proteins and the possibility of its hereditability in F1 generation. Acta Agrobot., 30, 5-11.
- BERNARD, M., AUTRAN, J.C., JOUDRIER, P., 1977.- Possibilités d'identification de certains chromosomes de seigle à l'aide de marqueurs biochimiques. Ann. Amélior. Plantes, 27, 355-362.
- BERNARDIN, J.E., KASARDA, D.D., 1973.- Hydrated protein fibrils from wheat endosperm. Cereal Chem., 50, 529-536.
- BIETZ, J.A., HUEBNER, F.R., WALL, J.J., 1973.- Glutenin, the strength protein of wheat flour. Backer's digest, 47, 26-35.
- BIETZ, J.A., SHEPHERD, K.W., WALL, J.S., 1975.- Single-kernel analysis of glutenin : use in wheat genetics and breeding. Cereal chem., 52, 513-532.
- BIETZ, J.A., WALL, J.S., 1972.- Wheat gluten subunits molecular-weights determined by sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis. Cereal chem., 49, 416-430.
- BIETZ, J.A., WALL, J.S., 1973.- Isolation and characterization of gliadin-like subunits from glutenin. Cereal chem., 50, 537-547.
- BIETZ, J.A., WALL, J.S., 1975.- The effect of various extractants on the subunit composition and associations of wheat glutenin. Cereal chem., 52, 145-155.
- BLOKSMA, A.H., 1958.- Die Bedeutung von thiol und disulphidgruppen im kleber für die Backfähigkeit. Getreide Mehl U. Brot., 9, 65-99.
- BLOKSMA, A.H., 1959.- The amperometric titration of thiol groups in flour and gluten. Cereal chem., 36, 357-368.
- BLOKSMA, A.H., 1963.- Oxidation by molecular oxygen of thiol groups in unleavened doughs from normal and defatted wheat flours. J. Sci. Food Agric., 14, 529-535.
- BLOKSMA, A.H., 1972.- The relation between the thiol and disulphide contents of dough and its rheological properties. Cereal chem., 49, 104-118.

- BOURDET, A., FEILLET, P., METTAVANT, F., 1963.- Sur le comportement électrophorétique de prolamines du blé en gel d'amidon. C. R. Acad. Sci., Sér. D, 256, 4517-4520.
- BOURIQUET, R., BURNOUF, T., 1980.- Studies on glutenin subunits from European hexaploid wheat varieties and some reciprocal crosses. Abstracts of lectures and poster demonstrations 45 A. II Congress of federation of european societies of plant physiology - Santiago de compostela, 27 July - 1 August.
- BOYD, W.J.R., LEE, J.W., 1967.- The control of wheat gluten synthesis at the genome and chromosome levels. *Experientia*, 23, 332-333.
- BOYD, W.J.R., LEE, J.W., WRIGLEY, C.W., 1969.- The D-genome and the control of wheat gluten synthesis. *Experientia*, 25, 317-319.
- BRANLARD, G., 1979.- Relation entre le polymorphisme des gliadines et la force boulangère des géotypes de blé tendre. Journée sur la "Biochimie génétique du blé". 24 Avril, ENSMIC, Paris.
- BURNOUF, T., 1977.- Les groupements soufrés de la farine de blé : leur relation avec la valeur boulangère et l'aspect microscopique des pâtes. DEA Amélior. Prod. vég. Microb. Univ. Lille.
- BURNOUF, T., BOURIQUET, R., 1980.- Glutenin subunits of genetically related european hexaploid wheat cultivars : their relation to bread-making quality. *Theor. Appl. Genet.*, 58, 107-111.
- BURR, B., BURR, F.A., RUBENSTEIN, I., SIMON, M.N., 1978.- Purification and translation of zein messenger RNA from maize endosperm protein bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75, 696-700.
- BUSCH, R.H., MAAN, S.S., 1978.- Effects of alien cytoplasm on agronomic and bread-making traits of two spring wheat cultivars. *Crop. Sci.*, 18, 864-866.
- BUSHUK, 1961.- Accessible sulfhydryl groups in dough. *Cereal chem.*, 38, 438-448.
- BUSHUK, W., 1976.- Glutenin, struktur, funktion und genetik. *Getreide Mehl U. Brot.*, 30, 257-261.
- BUSHUK, W., WRIGLEY, C.W., 1971.- Glutenin in developing wheat grain. *Cereal chem.*, 48, 448-455.
- CAUDERON, Y., AUTRAN, J.C., JOUDRIER, Ph., KOBREHEL, K., 1978.- Identification de chromosomes d'*Agropyron intermedium* impliqués dans la synthèse des gliadines, des β -amylases et des peroxydases à l'aide de lignées d'addition blé x *Agropyron*. *Ann. Amélior. Plantes*, 28, 257-267.

- CHAO, S.E., SCANDALIOS, J.G., 1971.- Alpha-amylase of maize : differential allelic expression at the amy- 1 genelocus, and some physicochemical properties of the isozymes. *Genetics*, 69, 47-61.
- CHAPMAN, S.R., Mac NEAL, F.N., 1970.- Gene effects for grain protein in five spring wheat crosses. *Crop. Sci.*, 10, 45-46.
- CLUSKEY, J.E., DIMLER, R.J., 1967.- Characterization of the acetic acid insoluble fraction of wheat gluten protein. *Cereal chem.*, 44, 611-619.
- COLE, E.W., NG, H., MECHAM, D.K., 1972.- Gradient ultracentrifugation in the characterization of the acetic-insoluble protein of wheat flour. *Cereal chem.*, 49, 68-71.
- COLE, E.W., NG, H., MECHAM, D.K., 1973.- Further studies on the fractionation and characterization of the gel proteins of wheat flour by Column chromatography. *Cereal chem.*, 50, 336-345.
- COLE, E.W., NG, H., MECHAM, D.K., 1976.- Some chemical and physical properties of the mercuric chloride-solubilized gel protein from different wheat varieties. *Cereal chem.*, 53, 250-257.
- COVENTRY, D.R., CARNEGIE, P.R., JONES, I.K., 1972.- The total glutathione content of flour and its relation to the rheological properties of dough. *J. Sci. Food Agric.*, 23, 587-594.
- CROW, M.J.A., ROTHFUS, J.A., 1968 - Chromatography of proteins from wheat gluten on polyacrylamide gel. *Cereal chem.*, 45, 413-420.
- CROZET, N., DE PASTORS, A., PETIT, L., 1974a.- Structure submicroscopique des fractions protéiques du gluten de blé soumise à l'action de différentes enzymes protéolytiques. *Ann. Technol. Agric.*, 23, 51-63.
- CROZET, N., GODON, B., PETIT, L., GUILBOT, A., 1974b.- Submicroscopic structure of wheat flour and gluten lipoprotein components. *Cereal chem.*, 51, 288-299.
- CUMMING, D.B., TUNG, M.A., 1975.- The ultrastructure of commercial wheat gluten. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.*, 8, 67-73.
- CUMMING, D.B., TUNG, M.A., 1977.- Modification of the ultrastructure and rheology of rehydrated commercial wheat gluten. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 10, 109-119.
- DAMIDAUX, R., 1979.- Relation entre les électrophorégrammes des gliadines et la viscoélasticité du gluten de blé dur. Journée sur la "Biochimie génétique du blé" 24 Avril. ENSMIC.Paris.

- DAMIDAUX, R., AUTRAN, J.C., GRIGNAC, P., FEILLET, P., 1978.- Mise en évidence de relations applicables en sélection entre l'électrophorogramme des gliadines et les propriétés visco-élastiques du gluten de Triticum durum Desf. C.R. Acad. Sci. Sér. D, 287, 701-704
- DANNO, G.I., KANAZAWA, K., NATAKE, M., 1974.- Extraction of wheat flour proteins with sodium dodecyl sulfate and their molecular weight distribution. Agric. Biol. Chem., 38, 1947-1953.
- DHALIWAL, H.S., 1977.- Basis of difference between reciprocal crosses involving Triticum boeoticum and Triticum urartu. Theor. appl. Genet., 49, 283-286.
- DOEKES, G.S., 1973.- Inheritance of gliadin composition in bread wheat, Triticum aestivum L. Euphytica, 22, 28-33.
- DOEKES, G.J., BELDEROK, B., 1976.- Kernel hardness and baking quality of wheat. A genetic analysis using chromosome substitution lines. Euphytica, 25, 565-576.
- DRONZEK, B.L., KALTSIKES, P.J., BUSHUK, W., 1970.- Effect of the D genome on the protein of three cultivars of hard red spring wheat. Can. J. Plant. Sci., 50, 389-400.
- DUBOIS, J., 1980.- Composés sulfhydrilés et croissance de tissus isolés de Carotte (Daucus carota L.) et de suspensions cellulaires de Silene (Silene alba (Miller) E.H.L. Krause). Thèse doct. Etat, Lille 333 p.
- DUNKER, A.K., RUECKERT, R.R., 1969.- Observations on molecular weight determinations on polyacrylamide gel. J. Biol. Chem., 244, 5074-5080.
- ELTON, G.A.M., EWART, J.A.D., 1966.- Glutenins and gliadins, electrophoretic studies. J. Sci. Food Agric., 17, 34-38.
- ESCRIBANO, M.J., GRABAR, P., 1966.- Etude immunochimique des protéines insolubles de la farine de blé après rupture des liaisons disulfures. Ann. Inst. Pasteur, 110, 84-88.
- EWART, J.A.D., 1968.- A hypothesis for the structure and rheology of glutenin. J. Sci. Food Agric., 19, 617-623.
- EWART, J.A.D., 1972.- Further studies on -S-S- bonds in cereal glutelins. J. Sci. Food agric., 23, 567-579.
- EWART, J.A.D., 1978.- Glutenin and dough tenacity. J. Sci. Food Agric., 29, 551-556.
- FEILLET, P., BOURDET, A., 1967.- Composition protéique et caractéristiques génétiques des blés. Bull. Soc. Chim. Biol., 49, 1273-1283.

- FILUTOWICZ, H., SERWATOWSKA, J., KACZKOWSKI, J., 1978.- Heredity of the fractional composition of wheat grain proteins in the F1 generation. *Acta Soc. Bot. Polon.*, 47, 269-278.
- FLINT, F.O., MOSS, R., 1970.- A comparative study of the microstructure of different types of biscuits and their doughs. *Food Trade Rev.*, 40, 32-39.
- GODON, B., 1969.- Etude physicochimique des associations protéiques du gluten de blé. Thèse doct. Etat, Paris, 133 p.
- GRAVELAND, A., BOSVELD, P., MARSEILLE, J.P., 1978.- Determination of thiol groups and disulphide bonds in wheat flour and dough. *J. Sci. Food Agric.*, 29, 53-61.
- GROSCH, W., WEBER, F., MAIR, G., 1978.- Vorkommen von glutathion in weizenmehl und-teig. *Getreide Mehl. U. Brot.*, 32, 175-177.
- GUEGUEN, J., LEFEBVRE, J., PETIT, L., 1974.- Les gluténines. *Ann. Technol. Agric.*, 23, 501-533.
- HADJICHRISTODOULOU, A., DELLA, A., 1978.- Factors affecting genotypic and environmental variance for crude protein content in cereals. *Euphytica*, 27, 117-126.
- HALL, T.C., McLEESTER, R.C., BLISS, F.A., 1977.- Equal expression of the maternal and paternal alleles for the polypeptide subunits of the major storage protein of the bean *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiol.*, 59, 1122-1124.
- HAMAUZU, Z., KAMAZUKA, Y., KANAZAWA, H., YONEZAWA, D., 1975.- Molecular weight determination of component polypeptides of glutenin after fractionation by gel filtration. *Agric. Biol. Chem.*, 39, 1527-1531.
- HESS, K., 1961.- Travaux récents sur la constitution des protéines du grain de blé et applications pratiques des résultats à de nouveaux modes de fabrication des farines à hautes teneurs en protéines. *Industr. alim. agric.*, 221-239.
- HIRD, F.J.R., YATES, J.R., 1960.- The oxidation of protein thiol groups by iodate, bromate and persulphate. *Biochem. J.*, 80, 612-616.
- HUEBNER, F.R., 1970.- Comparative studies on glutenins from different classes of wheat. *J. agric. Food chem.*, 18, 256-259.
- HUEBNER, F.R., DONALDSON, G.L., WALL, J.S., 1974.- Wheat glutenin subunits II. Compositional differences. *Cereal chem.*, 51, 240-249.
- HUEBNER, F.R., ROTHFUS, J.A., 1971.- Evidence for glutenin in wheat. Stability toward dissociating forces. *Cereal chem.*, 48, 469-478.

- HUEBNER, F.R., WALL, J.S., 1974.- Wheat glutenin subunits. I. Preparative separation by gel-filtration and ion-exchange chromatography. *Cereal chem.*, 51, 228-240.
- HUEBNER, F.R., WALL, J.S., 1976.- Fractionation and quantitative difference of glutenin from wheat varieties varying in baking quality. *Cereal chem.*, 53, 258-269.
- HUEBNER, F.R., WALL, J.S., 1980.- Wheat glutenin : effect of dissociating agents on molecular weight and composition as determined by gel filtration chromatography. *Agric. Food Chem.*, 28, 433-438.
- INAMINE, E.S., NOBLE, E.G., MECHAM, D.K., 1967.- Solubilization and fractionation of wheat flour protein insoluble in dilute acetic acid. *Cereal chem.*, 44, 143-151.
- JANKIEWICZ, M., POMERANZ, Y., 1965.- Isolation and characterization of wheat flour proteins. *J. Sci. Food Agric.*, 16, 652-658.
- JENNINGS, A.C., MORTON, R.K., PALK, B.A., 1963.- Isolation and characterization of protein bodies from developing wheat endosperm. *Aust. J. Biol. Sci.*, 16, 375-379.
- JOHNSON, V.A., SCHMIDT, J.W., MATTERN, P.J., HAUNOLD, A., 1963.- Agronomic and quality characteristics of high protein F2 - derived families from a soft red winter-hard red winter wheat cross. *Crop. Sci.*, 3, 7-10.
- JONES, R.W., BABCOCK, G.E., TAYLOR, N.W., DIMLER, R.J., 1963.- Fractionation of wheat gluten by gel filtration. *Cereal chem.*, 40, 409-414.
- JONES, I.K., PHILLIPS, J.W., HIRD, F.J.R., 1974.- The estimation of rheologically important thiol and disulphide groups in dough. *J. Sci. Food Agric.*, 25, 1-10.
- JOUDRIER, P., 1974.- Généalogie des variétés de blé tendre d'origine française. *Bull. Anc. Elèves Ecole française de Meunerie*, 264, 298-302.
- KACZKOWSKI, J., KOCON, J., SERWATOWSKA, V., 1978.- Patterns of wheat gluten proteins in scanning Electron Microscope. *Bull. Acad. pol Sci., Sér. Sci. biol.*, 26, 141-145.
- KANAZAWA, H., YONEZAWA, D., 1974.- Aggregative polypeptides as component polypeptides of wheat glutenin. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 48, 113-117.
- KASARDA, D.D., BERNARDIN, J.E., QUALSET, C.O., 1976.- Relationship of gliadin protein components to chromosomes in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 73, 3646-3650.

- KERBER, E.R., TIPPLES, K.H., 1969.- Effect of the D genome on the milling and baking properties of wheat. *Can. J. Plant Sci.*, 49, 255-263.
- KHAN, K., BUSHUK, W., 1976.- Studies of glutenin - VIII. Subunit composition at different stages of grain maturity. *Cereal chem.*, 53, 566-573.
- KHAN, K., BUSHUK, W., 1977.- Studies of glutenin. IX subunit composition by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis at pH 7,3 and 8,9. *Cereal chem.*, 54, 588-596.
- KIM, S.I., SAUR, L., MOSSE, J., 1979.- Some features of the inheritance of avenins, the alcohol soluble proteins of oat. *Theor. Appl. Genet.* 54, 49-54.
- KOBREHEL, K., 1979.- Relation entre la solubilité des protéines en présence des savons et la qualité boulangère des blés. Journée sur la "Biochimie-génétique du blé", 24 Avril, ENSMIC, Paris.
- KOCON, J., MUSZYNSKI, SOWA, W., 1978.- The ultrastructure of endosperm in wheat (*Triticum aestivum* L.) as revealed by scanning electron microscopy. *Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. Sci. Biol.*, 26, 5-12.
- KONG, R.W., MECHAM, D.K., PENCE, J.W., 1957.- Determination of sulphhydryl groups in wheat flour. *Cereal Chem.*, 34, 201-210.
- KUNINORI, T., MATSUMOTO, H., 1964.- Glutathione in wheat and wheat flour. *Cereal chem.*, 41, 252-259.
- LAEMMLI, V.K., 1970.- Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- LEGOUAR, M., COUPRIE, J., GODON, B., 1979.- Comportement des constituants protéiques lors des mélanges de farine de blé ou de certaines de leurs fractions. *Z. Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 12, 266-272.
- LEE, J.W., RONALDS, J.A., 1967.- Effect of environment on wheat gliadin. *Nature*, 213, 844-846.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951.- Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- MacMASTERS, M.M., HINTON, J.J.C., BRADBURY, D., 1971.- Microscopic structure and composition of the wheat kernel. in : POMERANZ, Y. (Ed.) *Wheat chemistry and technology*, AACC, St Paul Minnesota.
- MacNEAL, F.H., BERG, M.A., WATSON, C.A., 1968.- Reciprocal crosses and their influence on wheat quality. *Crop. Sci.*, 8, 485-487.



- MacNEAL, F.H., BERG, M.A., BROWN, P.L., McGUIRE, C.F., 1972.- Productivity and quality response of five spring wheat genotypes Triticum aestivum L., to nitrogen fertilizer. Agron. J., 63, 908-910.
- MACRITCHIE, F., 1975.- Mechanical degradation of gluten proteins during high-speed mixing of doughs. J. Polymer Sci. : Symposium n° 49, 85-90.
- MATSUMOTO, H., HLYNKA, I., 1959.- Some aspects of sulfhydryl-disulfide system in flour and dough. Cereal chem., 36, 513-521.
- MATTERN, P.J., SCHMIDT, J.W., JOHNSON, V.A., 1970.- Screening for high lysine content in wheat. Cereal Sci. Today, 15, 409-411.
- MECHAM, D.K., 1959.- Effects of sulfhydryl-blocking reagents on the mixing characteristics of doughs. Cereal chem., 36, 134-145.
- MECHAM, D.K., 1968.- The sulfhydryl and disulfide contents of wheat flours, doughs, and proteins. Baker's digest, 27-30.
- MECHAM, D.K., COLE, E.G., NG, H., 1972.- Solubilizing effect of mercuric chloride on the gel protein of wheat flour. Cereal chem., 49, 62.
- MECHAM, D.K., COLE, E.G., SOKOL, H.A., 1963.- Modification of flour proteins by dough mixing : effects of sulfhydryl-blocking and oxidizing agents. Cereal chem., 40, 1-9.
- MECHAM, D.K., KASARDA, D.D., QUALSET, C.O., 1978.- Genetic aspects of wheat gliadin proteins. Biochem. Genet., 16, 831-853.
- MECHAM, D.K., SOKOL, M.A., PENCE, J.W., 1962.- Extractable protein and hydration characteristics of flours and doughs in dilute acid. Cereal chem., 39, 81-93.
- MEREDITH, O.B., WREN, J.J., 1966.- Determination of molecular-weight distribution in wheat-flour proteins by extraction and gel-filtration on a dissociating medium. Cereal chem., 43, 169-186.
- MITA, T., YONEZAWA, D., 1971.- Separation of component polypeptides of glutenin by isoelectric focusing. Agric. Biol. chem., 35; 1792-1798.
- MORRIS, R., SCHMIDT, J.W., MATTERN, P.J., JOHNSON, V.A., 1966.- Chromosomal location of genes for flour quality in the wheat variety Cheyenne using substitution lines. Crop. Sci., 6, 119-122.
- MOSS, R., 1974.- Dough microstructure as affected by the addition of cysteine, potassium bromate and ascorbic acid. Cereal Sci. Today 19, 557-561.

- MOSSE, J., 1973.- Hétérogénéité et polymorphisme des protéines et isoenzymes végétales : aspects moléculaires et évolutifs. *Physiol. végét.*, 11, 361-384.
- MOSSE, J., BAUDET, J., 1964.- Extraction des protéines des graines. Extraction exhaustive et fractionnement des protéines de la farine de blé. Composition en acides aminés des 17 fractions séparées. *Ann. Physiol. Vég.*, 6, 285-304.
- NIELSEN, M.C., BABCOCK, G.E., SENTI, F.R., 1962.- Molecular weight studies on glutenin before and after disulfide-bond splitting. *Arch. Biochem. Biophys.*, 96, 252-258.
- O'BRIEN, L., ORTH, R.A., 1977.- Effect of geographic location of growth on wheat milling yield, farinograph properties, flour protein and residue protein. *Aust. J. Agric. Res.*, 28, 5-9.
- ORAM, R.N., DOLL, N., KOIE, B., 1975.- Genetics of two storage protein variants in barley. *Hereditas*, 80, 53-58.
- ORTH, R.A., BUSHUK, W., 1973a.- Studies of glutenin. I. Comparison of preparative methods. *Cereal chem.*, 50, 106-114.
- ORTH, R.A., BUSHUK, W., 1973b.- Studies of glutenin. II. Relation of variety, location of growth and baking quality to molecular weight distribution of subunits. *Cereal chem.*, 50, 191-197.
- ORTH, R.A., BUSHUK, W., 1973c.- Studies of glutenin. III. Identification of subunits coded by the D genome and their relation to breadmaking quality. *Cereal chem.*, 50, 680-687.
- ORTH, R.A., BUSHUK, W., 1974.- Studies of glutenin. VI. Chromosomal location of genes coding for subunits of glutenin of common wheat. *Cereal Chem.*, 51, 118-126.
- ORTH, R.A., DRONZEK, B.L., BUSHUK, W., 1973 a.- Scanning electron microscopy of bread wheat proteins fractionated by gel filtration. *Cereal chem.*, 50, 146-701.
- ORTH, R.A., DRONZEK, B.L., BUSHUK, W., 1973b.- Studies of glutenin. IV. Microscopic structure and its relation to breadmaking quality. *Cereal chem.*, 50, 688-696.
- PAYNE, P.I., CORFIELD, K.G., 1979.- Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*, 145, 83-88.
- PAYNE, P.I., CORFIELD, K.G., HOLT, L.M., BALCKMAN, J.A., 1981.- Correlations between the inheritance of certain high-molecular weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *J. Sci. Food Agric.* (in press).

- PAYNE, P.I., HARRIS, P.A., LAW, L.M., BALCKMAN, J.A., 1980a.-
The high-molecular-weight subunits of glutenin : structure, genetics,
and relationship to bread-making quality. Colloque sur "les proprié-
tés des protéines du blé", 28-30 Avril, INRA, Nantes.
- PAYNE, P.I., LAW, C.N., MUDD, E.E., 1980b.- Control by homoelogenous group 1
chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin,
a major protein of wheat endosperm. Theor. Appl. Genet., 58,
113-120.
- PENCE, J.W., OLCOTT, H.S., 1952.- Effect of reducing agents on gluten pro-
teins. Cereal Chem., 29, 292-298.
- PERNOLLET, J.C., 1979.- Protein bodies of seeds : ultrastructure, biochemis-
try, biosynthesis and degradation. Phytochem., 17, 1473-1480.
- POMERANZ, Y., 1971.- Wheat : chemistry and technology. Ed. AACC St Paul
Minnesota, 821 p.
- POPINEAU, Y., GODON, B., 1976.- Quelques caractères biochimiques des blés
impanifiables. Bull. Anc. Elèves Ecole française de Meunerie,
n° 274, 191-194.
- PRIMO, E., BARBER, S., de BARBER, C., 1965. Factores de calidad del arroz.
XVI Influencia de los grupos sulfhidrilo y disulfuro
A.T.A. 5, 232-238.
- RICKEMAN, J.S., DESBOROUGH, S.L., 1978.- Inheritance of three electrophore-
tically determined protein bands in Potato (Solanum tuberosum L.)
Theor. appl. Genet., 52, 187-190.
- RIEGER, R., MICHAELIS, A., GREEN, M.M., 1976.- Glossary of genetics and
cytogenetics (Classical and Molecular). Springer-Verlag, Berlin
Heidelberg New York.
- ROUSSET, M., AUTRAN, J.C., 1979.- La qualité des blés. Le pain, Actes
du Colloque du CNERNA, p.15-42, Novembre 1977, Paris.
- SALCEDO, G., ARAGONCILLO, C., RODRIGUEZ-LOPERENA, M.A., CARBONERO, P.
GARCIA-OLMEDO, F., 1978.- Differential allelic expression at a locus
encoding an endosperm protein in tetraploid wheat. Genetics, 89,
147-156.
- SALCEDO, G., PRADA, J., ARAGONCILLO, C., 1979.- Low MW gliadin-like proteins
from wheat endosperm. Phytochem., 18, 725-727.
- SALCEDO, G., PRADA, J., SANCHEZ-MONGE, 1980.- Aneuploid analysis of low
molecular weight gliadins from wheat. Theor. appl. Genet., 56,
65-69.
- SASEK, A., CERNY, J., 1977.- The utilization of gliadin spectra for the
verification of wheat mutants (Triticum aestivum L.). Cereal
Research communication, 5, 399-408.

- SASEK, A., CERNY, J., 1978.- Verification of wheat mutants (Triticum aestivum L.) by means of gliadin spectra. Rostl. Vyroba, 24, 517-525.
- SASEK, A., FOSNER, J., 1977.- The localization of chromosomes affecting the gliadin component of the kavkaz variety by means of monosomic analysis. Cereal Res. Communications, 5, 215-223.
- SCHWARTZ, D., 1962.- Genetic studies on mutant enzymes in maize. III Control of gene action in the synthesis of pH 7,5 esterase. Genetics, 47, 1609-1615.
- SEARS, E.R., 1954.- The aneuploids of common wheat. Mo. Agr. exp. Res. Bull., 572, 1
- SECKINGER, H.L., WOLF, M.J., 1967.- Lipid distribution in the protein matrix of wheat endosperm as observed by electron microscopy. Cereal chem., 44, 669-673.
- SHAPIRO, A.L., VINUELA, E., MAIZEL, J.V., 1967.- Molecular weight estimation of polypeptide chains by electrophoresis in SDS-polyacrylamide gels. Biochem. Biophys. Res. Com., 28, 815-820.
- SHEARER, G., PATEY, A.L., Mc WEENY, J.D., 1975.- Wheat flour proteins : the selectivity of solvents and the stability of gliadin and glutenin fractions of stored flours. J. Sci. Food Agric., 26, 337-344.
- SHEPHERD, K.W., 1968.- Chromosomal control of endosperm proteins in wheat and rye. In : Proceedings of the third international wheat Genetics Symposium p. 86-96. Eds K.W. FINLAY et K.W. SHEPHERD, Australian Academy of Science, Canberra.
- SHEWRY, P.R., PRATT, H.M., FINCH, R.A., MIFLIN, J., 1978.- Genetic analysis of hordein polypeptides from single seeds of barley. Heredity, 40, 463-466.
- SHOGRÉN, M.D., FINNEY, K.F., HOSENEY, R.C., 1969.- Functional (Breadmaking) and Biochemical Properties of wheat flour components. I. solubilizing gluten and Flour Protein. Cereal chem., 46, 93-102.
- SIMMONDS, D.H., 1972a.- The ultrastructure of the mature wheat endosperm. Cereal chem., 49, 212-222.
- SIMMONDS, D.H., 1972b.- Wheat grain morphology and its relationship to dough studies. Cereal Chem., 49, 324-335.
- SIMMONDS, N.W., 1979.- Principles of crop improvement. Ed. Longman Inc. New York, 408 p.

- SINGH, A.N., NANDA, J.S., 1976.- Effect of the genotype of seed and the sporophyte on the protein content of seed in bread wheat (*T. Aestivum* L.). *Cereal Res. Comm.*, 4, 51-54.
- SOKOL, H.A., MECHAM, D.K., PENCE, J.W., 1959.- Further studies on the determination of sulphhydryl groups in wheat flours. *Cereal chem.*, 36, 127-133.
- SOKOL, H.A., MECHAM, D.K., PENCE, J.W., 1960a.- Observations on the reactivity of sulphhydryl groups in wheat flour. *Cereal chem.*, 37, 151-158.
- SOKOL, H.A., MECHAM, D.K., PENCE, J.W., 1960b.- Sulphhydryl losses during mixing of doughs : comparison of flours having various mixing characteristics. *Cereal chem.*, 37, 739-748.
- SOZINOV, A.A., POPERELLA, F.A., PARFENTIEV. M.G., 1970.- Hérité de quelques fractions protéiques alcool solubles au cours de l'hybridation des blés (en russe). *Nautch. Tech. Bull. V.C.G.I.*, 13, 408.
- SOZINOV, A.A., POPERELLA, F.A., STAKANOVA, A.I., 1974.- Composition des constituants gliadines dans les grains F1 (en russe). *Vestn. Sel' Skokhoz. Nauki.*, 7, 99-108.
- STACHELBERGER, H., 1977a.- Investigations on the molecular weight distribution of wheat glutenin subunits. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 165, 200-203.
- STACHELBERGER, H., 1977b.- Scanning microscopic investigations of the submicroscopic structure of gluten protein fractions. *Qual. Plant., Pl. Fds; Hum. Nutr.* 27, , 293-302.
- STACHELBERGER, H., 1978a.- Über den Einfluss verschiedener Darstellungsmethoden auf die Zusammensetzung von Kleber-protein fraktionen I. Der sulphhydryl - und disulfidgehalt von Gluteninen und Gliadinen. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 11, 45-47.
- STACHELBERGER, H., 1978b.- Über den Einfluss verschiedener Darstellungsmethoden auf die Zusammensetzung von kieber-protein fraktionen. II. Die aminosäurezusammen setzung von Gluteninen und Gliadinen *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 11, 134-136.
- STEVENS, D.J., 1966.- The reaction of wheat proteins with sulphite. II. Accessibility of disulphide and thiol groups in flour. *J. Sci. Food Agric.*, 17, 202-204.
- SULLIVAN, B., DAHLE, L., LARSON, E., 1961.- The oxidation of wheat flour I. Measurement of sulphhydryl groups. *Cereal chem.*, 38, 272-280.
- TANAKA, K., BUSHUK, W., 1973a.- Changes in Flour Proteins during Dough-Mixing. II. Gel filtration and electrophoresis Results. *Cereal Chem.*, 50, 597-605.

- TANAKA, K., BUSHUK, W., 1973b.- Changes in flour proteins during dough-mixing. III. Analytical results und mechanisms. Cereal chem., 50, 605-612.
- TARKOWSKI, C., OTLOWSKA-MIAZGA, D., 1976.- Location of genes controlling the quantitative level of protein in kernels of winter wheat, Luna variety. Genetica polonica, 17, 319-323.
- TSEN, C.C., ANDERSON, J.A., 1963.- Determination of sulfhydryl and disulfide groups in flour and their relation to wheat quality. Cereal chem., 40, 314-323.
- TSEN, C.C., 1967.- Changes in flour proteins during dough mixing. Cereal chem., 44, 308-317.
- TSEN, C.C., 1969.- Effects of oxidizing and reducing Agents on changes of flour proteins during dough mixing. Cereal chem., 46, 435-442.
- TSOEGL, N.W., 1961.- Chloroethanol as a cereal protein dispersant. Cereal chem., 38, 516-529.
- TU, C.C., TSEN, C.C., 1978.- Effects of mixing and surfactant on microscopic structure of wheat glutenin. Cereal chem., 55; 87-95.
- VOGEL, K.P., JOHNSON, V.A., MATTERN, P.J., 1978.- Protein and lysine contents of endosperm and bran of the parents and progeny of crosses of common wheat. Crop. Sci., 18, 751-754.
- VOLODIN, V.I., GURINOVICH, O.I., KOSTROMICHEVA, A.L., IZMALKOV, V.I., 1978.- Component composition of protein in seeds of F1 Pea and wetch hybrids. Genetica, XIV, 1393-1399.
- WALL, J.S., 1979.- The role of wheat proteins in determining baking quality. In : Recent advances in the Biochemistry of Cereals, P. 275-311. Eds. D.L. LAIDMAN et R.G. WYN JONES Academic press. London, New York San Francisco.
- WASIK, R.J., BUSHUK, W., 1974.- Studies of glutenin.V. Note on additional preparative methods. Cereal Chem., 51, 112-118.
- WEBER, F., GROSCH, W., 1978.- Determination of reduced and oxidised glutathione in wheat flours and doughs. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 167, 87-92.
- WEBER, K., OSBORN, M., 1969.- The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. Biol. chem., 244, 4406-4412.

- WELSH, J.R., NEHN, E.P., 1964.- The effect of chromosome 1 D on hexaploid wheat flour quality. *Crop. Sci.*, 4, 320-323.
- WELSH, J.R., WATSON, C.A., GREEN, C.W., 1968.- Chromosomal control of flour properties in three substitution sets of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop. Sci.*, 8, 81-82.
- WOYCHIK, J.H., HUEBNER, F.R., DIMLER, R.J., 1964.- Reduction and starch-gel electrophoresis of wheat gliadin and glutenin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 105, 151-155.
- WRIGLEY, C.W., 1972.- The biochemistry of the wheat protein complex and its genetic control. *Cereal Sci. Today*, 12, 370-375.
- WRIGLEY, C.W., SHEPHERD, K.W., 1978.- Electrofocusing of grain proteins from wheat genotypes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 209, 154-162.
- YOSHIDA, M., HAMAUZU, Z., YONEZAWA, D., 1980.- On the reactivity of disulfide groups of gliadin and glutenin. *Agric. Biol. Chem.*, 44, 657-661.

