

PSDR Recherches "Pour et sur le développement régional" en Languedoc-Roussillon

Agriculture et agroalimentaire dans le développement des territoires en Languedoc-Roussillon : quelles questions à la recherche ?

Amélioration de la valeur technologique et commerciale du blé dur : vers une réduction des taux de moucheture et de mitadin

Essentiellement destiné à l'alimentation humaine, le blé dur a pour principaux débouchés : la semoule, les pâtes alimentaires ou les grains précuits. Les critères qui définissent la qualité d'usage des blés durs sont nombreux. Parmi eux, le mitadinage¹ pénalisant la valeur semoulière et la moucheture¹ dépréciant l'aspect des pâtes alimentaires, sont des aspects essentiels de la qualité et font l'objet d'une attention particulière de la filière. L'objectif du programme DADP2-PSDR (2001-2005) était (i) d'identifier les principaux facteurs limitants de ces deux critères de qualité, (ii) de produire des connaissances sur leurs déterminants génétiques et environnementaux, et (iii) de proposer de nouvelles méthodes de quantification.



Mitadinage et nutrition azotée

Pour satisfaire à la demande de l'industrie, le blé dur idéal doit être vitreux et non farineux, c'est-à-dire présenter très peu de mitadinage. Or, collecteurs et transformateurs de blé dur observent régulièrement des teneurs en protéines trop basses et diversement liées avec des critères qualitatifs tels le mitadinage. Ceci peut, en particulier, résulter d'une inadéquation entre les apports azotés et les besoins de la plante. En effet, au cours des dernières décennies, la sélection variétale s'est traduite par une amélioration de l'indice de récolte des éléments carbonés (composante dominante du rendement en matière sèche) au détriment des éléments azotés. Il est probable que les pratiques agricoles de fertilisation azotée (dose apportée et fractionnement) ne se soient pas adaptées à cette évolution génétique. Enfin, les recommandations courantes de culture ne prennent pas toujours en compte les différences variétales de capacités d'assimilation d'azote post-floraison.

Ainsi pour le producteur, limiter le taux de mitadin implique un changement de pratique technique que la

recherche doit permettre d'identifier dans un esprit de durabilité du système, en éclaircissant les relations *Nutrition azotée de la plante/Elaboration de la fraction protéique / Taux de mitadin*. Tel est l'objectif du partenariat pluridisciplinaire regroupant des agronomes, des généticiens, des physico-chimistes et des technologues issus de la recherche publique (Inra, Cemagref), des instituts techniques (Arvalis Institut du végétal) ou de la recherche privée (semenciers, semouliers et fabricants de pâtes alimentaires) qui a été mis en place dans le cadre de ce programme DADP2-PSDR. Au cours du programme, deux principaux points ont pu être abordés : (i) compréhension de l'élaboration de la teneur en protéines des grains et relation avec le mitadin, (ii) caractérisation physico-chimique des albumens farineux et vitreux et étude de la fraction protéique en relation avec la qualité technologique.

L'objectif des travaux conduits par Arvalis Institut du Végétal et l'Inra était de comprendre l'élaboration de la teneur en protéines et son influence sur la qualité technologique des blés durs en quantifiant ses principales sources de variation que sont : la variété, la fertilisation et le climat. Dans le cadre de l'alimentation en azote,

¹ Définitions :

Le mitadinage. Selon le règlement communautaire n° 824/2000 du 19 avril 2000, un grain mitadiné est un "grain dont l'amande ne peut être considérée comme pleinement vitreuse". Le mitadinage est un accident physiologique fréquent qui se traduit par un changement de texture de l'albumen du grain. Les grains de blé mitadinés présentent des zones farineuses et opaques dans un ensemble vitreux alors que les grains de blé normaux apparaissent totalement vitreux et translucides. Le taux de mitadin (exprimé en %) indique le nombre de grains partiellement ou totalement farineux dans un lot de grains. S'il est trop élevé, le rendement semoulier chute. La qualité commerciale type indique que moins de 20 % des grains doivent être mitadinés.

La moucheture du blé dur se caractérise, sur les grains mûrs, par des plages de coloration brune ou noire en d'autres endroits que sur le germe (réglementation CEE 824/2000). elles sont pénalisantes car on les retrouve dans la semoule et dans les pâtes alimentaires. La dépréciation de la valeur marchande des lots de blés durs peut être très importante avec des réactions de prix, voire des refus de lots présentant des taux de moucheture supérieurs à 5%. Ce % correspond au poids des grains mouchetés par rapport au poids total de l'échantillon.

Les partenaires : Inra - UMR Iate

2, place Pierre Viala
34060 Montpellier cedex 2 France
email : samsonmf@ensam.inra.fr,
joel.abecassis@ensam.inra.fr,
fax : (33) 4 67 52 20 94

Inra - UMR DGPC

Domaine de melgueil
34130 Mauguio - France
email : desclaux@ensam.inra.fr,
roumet@ensam.inra.fr,
fax : (33) 4 67 29 39 90

Arvalis-Institut du végétal

6, chemin Côte Vieille
31450 Baziège - France
email : d.caron@arvalisinstitutduvegetal.fr,
fax : (33) 5 61 81 48 07

Arvalis-Institut du végétal

Domaine de la Bastide
30900 Nîmes - France
email : p.braun@arvalisinstitutduvegetal.fr,
fax : (33) 4 66 29 45 69

Inra-UMR Arche

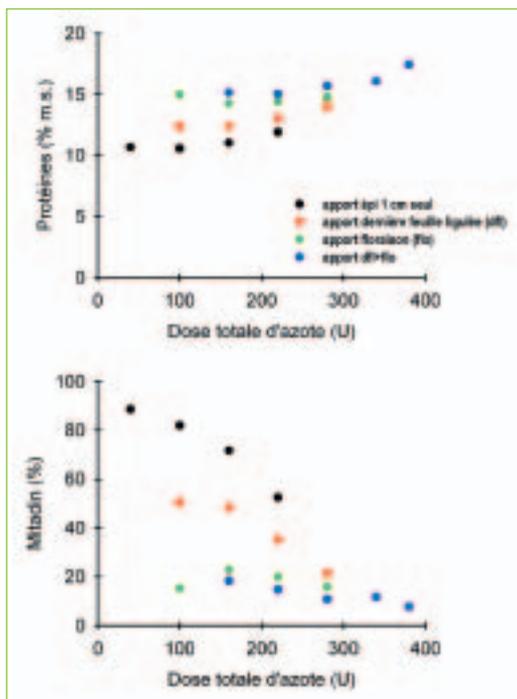
BP 27 31326 Castanet Tolosan
cedex - France
email : debaek@toulouse.inra.fr,
fax : (33) 5 61 73 55 37

CRECERPAL - PANZANI

131, avenue Corot
13013 Marseille - France
email : jmas@panzani.fr,
fax : (33) 4 91 70 89 34

l'aspect variétal a été abordé principalement en analysant les facultés d'absorption et de transfert de l'azote dans des conditions de nutrition ciblées. Le choix variétal a été défini par les obtenteurs en fonction de résultats préalables, l'objectif étant d'avoir des variétés proches en ce qui concerne le potentiel de rendement, de précocité pas trop éloignée mais en revanche englobant la diversité actuelle en ce qui concerne les couples rendement-protéines et protéines-mitadinage.

Les données agronomiques obtenues au cours du programme permettent de mettre en évidence l'importance du fractionnement en 3 ou 4 apports de la dose d'azote. On constate qu'un apport tardif à la floraison permet d'améliorer la teneur en protéines et de diminuer de façon significative le mitadinage et qu'un fractionnement en 4 apports est encore plus performant. Ce type de pratique culturale permet aussi une réduction des intrants.



Influence de l'apport azoté et de son fractionnement sur la teneur en protéines totales des grains (en haut) et sur leur taux de mitadin (en bas) à la récolte (données Auzeville 2002).

Sur le plan biochimique, les lots de blé les moins mitadinés (<20 %) ont plus de gliadines que de gluténines. Il semble, comme chez le blé tendre, que l'augmentation de la teneur en protéines totales en réponse à la fertilisation azotée, s'accompagne d'une élévation de la teneur en gliadines qui dans le cas du blé dur modifierait la structure de l'albumen. Au niveau méthodologique, l'utilisation de la chromatographie d'exclusion-diffusion permet sur un petit échantillon de grains ou à un stade précoce de la sélection, de déterminer à la fois la teneur en protéines totales et le rapport gliadines/gluténines.

L'implication des agronomes, physico-chimistes et technologues, en partenariat étroit avec la filière blé dur, a permis d'isoler les déterminants environnementaux majeurs du mitadinage. Ces données sont d'une grande importance dans la mesure où elles démontrent la liaison entre mitadinage et teneur en protéines totales.

La spectroscopie Infra-Rouge pour mesurer le taux de mitadin

Mesurer les taux de mitadin de lots de blé dur est relativement fastidieux et coûteux. Pour mesurer le taux de mitadin, les grains sont sectionnés en 2 à l'aide d'un farinotome de Pohl et la présence de la moindre tache farineuse entraîne le classement du grain en mitadiné. La caractérisation du taux de mitadin d'un lot de grains nécessite l'examen grain à grain d'un minimum de 600 grains indemnes de toutes impuretés. Le calcul du taux de mitadin est obtenu par le rapport entre le nombre de grains mitadinés comptabilisés et le total des 600 grains. Un seuil de 20% est la limite en vigueur pour un prix sans réfaction.

Le coût d'une telle détermination, sa lenteur, la difficulté de reproductibilité des résultats empêche la prise en compte de ce critère à un stade précoce dans les programmes de sélection lorsque plusieurs milliers de lots doivent être caractérisés. L'Inra (UMR DGPC) a donc proposé de rechercher des méthodes de détermination de ces critères à la fois plus rapides et plus fiables. La spectrométrie proche infra-rouge, technique de plus en plus répandue pour le contrôle rapide de la qualité de matières premières, a été choisie pour essayer de prédire les taux de mitadin. Cette technique non destructive et rapide, présente l'avantage de demander peu de manipulations. Elle est basée sur l'absorption de la lumière proche infra-rouge par la matière organique. L'échantillon à analyser est introduit dans la cellule de mesure d'un spectromètre proche infra-rouge qui balaye les longueurs d'ondes du visible et du proche infrarouge (400 à 2500 nm). Des spectres de réflexion sont mesurés en différents points de la cellule de mesure et le spectre moyen est utilisé pour prédire le taux de mitadin. En utilisant des calibrations dans lesquelles les données spectrales de l'échantillon connu sont mises en corrélation avec leurs valeurs analytiques de référence, la spectrométrie peut prédire, pour un lot inconnu, le niveau du paramètre en se basant uniquement sur l'empreinte spectrale de l'échantillon. L'un des objectifs de ce programme était d'obtenir une courbe d'étalonnage pertinente.

L'obtention d'une courbe d'étalonnage passe par l'analyse d'un grand nombre d'échantillons de blé analysé simultanément par une méthode de référence et par spectroscopie. Plus de 500 échantillons de blé dur, provenant du réseau officiel d'inscription des variétés en France (CTPS) (années 1999 à 2002) ont été utilisés pour l'étape de calibration. La détermination des taux de mitadin de chacun de ces lots a été effectuée par la méthode de référence par la Société Laboval (Valence) dans le cadre des mesures réalisées en vue de l'inscription des variétés au catalogue officiel français.



A gauche, coupe d'un grain vitreux, à droite coupe d'un grain totalement mitadiné

Sur la base de ces données spectrales, des calibrations ont été développées. Pour cela, 2 stratégies ont été utilisées : (i) développement d'une calibration unique pour des taux de mitadin variant entre 0 et 100 %, (ii) prédiction d'appartenance des échantillons à 3 classes représentant des intensités croissantes du taux de mitadin (0-25 %, 25-70 %, 70-100 %). Chacune des classes représente respectivement : la gamme d'expression tolérée par l'industrie semoulière, des situations dans lesquelles l'expression du phénomène est importante mais tout en ne concernant qu'une partie du grain et enfin la situation de lots trop fortement mitadinés pour être valorisés correctement commercialement.

Les équations développées en spectrométrie en proche infra-rouge paraissent dans un premier temps utilisables en recherche, avec un début d'application en sélection notamment pour trier rapidement les génotypes sur ces critères : 85 % de la variabilité des notes de référence pouvant être prédits par l'infrarouge. Toutefois, compte tenu du niveau actuel de l'erreur de prédiction obtenue avec cette méthode infra rouge (environ 20° % supérieure à celle générée par l'analyse de référence), une utilisation pour des transactions commerciales n'est pas encore envisageable. Les données prédites sont pour l'instant plus à considérer comme données relatives qu'absolues et peuvent donc permettre dans un programme de sélection de comparer les variétés entre elles ou par rapport à des témoins dont les niveaux de sensibilité au mitadinage.

Le travail réalisé a permis d'ouvrir une nouvelle piste de travail en matière de caractérisation rapide des taux de mitadin et de proposer des traitements mathématiques des signaux spectraux afin de développer une prédiction plus précise des taux de mitadin. Des travaux sur ces traitements mathématiques (en collaboration avec le Cemagref) continuent afin de tester de nouvelles procédures (imagerie hyperspectrale). De même que pour la technique précédente, les 1^{ers} résultats sont très encourageants et démontrent les potentialités de cette technique. Une validation de ces données sur des échantillons d'origine très diversifiée reste à réaliser avant de préconiser l'utilisation de telles analyses en routine hors des laboratoires.

La Moucheture du blé dur

La moucheture du blé dur, caractérisée par des taches brunes à noires sur le grain de blé à maturité, contribue à déprécier l'aspect des pâtes alimentaires. L'origine de ces tâches est encore à ce jour méconnue. Certains travaux avaient mis en évidence l'impact d'une hygrométrie élevée à certains stades du cycle du blé mais des questions restent posées : (i) l'hygrométrie est-elle



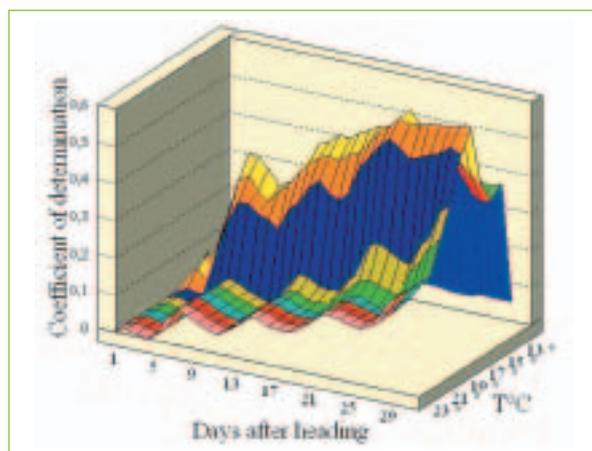
Grain sain (à gauche), grains mouchetés (au centre et à droite)

seule responsable d'une expression de la moucheture ? (ii) Quels sont les stades de développement de la plante les plus critiques ? (iii) Existe-t-il d'autres facteurs causaux ?

Facteurs environnementaux et moucheture

Des travaux menés précédemment avaient permis non seulement de vérifier l'impact d'une forte hygrométrie sur le développement de la moucheture mais surtout de mettre en évidence le rôle de l'interaction hygrométrie x température. En effet, l'expression de la moucheture varie considérablement selon le seuil de température. La courbe en cloche ainsi obtenue met en évidence une corrélation d'autant plus forte avec l'hygrométrie que les températures moyennes sont comprises entre 15 et 17°C.

Ces travaux ont été vérifiés par des expérimentations complémentaires en milieu contrôlé, pour lesquels les variétés ont été soumises à 6 traitements correspondant à des combinaisons de niveaux d'hygrométrie (50 à 90%) et de température (13° à 19°C) du stade épiaison au stade floraison. Un taux maximal de moucheture (32%) a ainsi été obtenu, en chambre de culture à 80% d'hygrométrie et pour des températures de 16°C.



Evolution de la corrélation (coefficient de détermination) entre le taux d'humidité et le taux de moucheture dans les jours qui suivent l'épiaison (days after heading) selon le seuil de température considéré.

Validation in situ

Les données climatiques dans la zone traditionnelle de production du blé dur des dix dernières années ont été corrélées aux taux de moucheture mesurés dans les mêmes lieux. Sur les lieux considérés, la variation inter-annuelle du taux de moucheture est très importante (2.5 à 14% en moyenne selon les années, de 15 à 55% pour les maximaux). Parmi l'ensemble des variables climatiques journalières collectées pendant la période épiaison-grain pâteux, ce sont essentiellement la température moyenne et l'humidité maximale qui se révèlent les plus corrélées au taux de moucheture ($R^2=0.8$ à 0.9).

La période de sensibilité peut être relativement courte. Des travaux en milieux contrôlés (serre, chambre de culture) ou en plein champ, ont permis d'obtenir une gamme de température et d'hygrométrie appliquée à 4 stades, du stade 2 nœuds au stade grains laitex. Avant le stade gonflement, une augmentation d'hygrométrie n'a pas d'influence sur le taux de moucheture. Cependant, dès le stade gonflement, une forte hygro-

métrie provoque l'apparition de la moucheture (+ 20% / témoin). De courtes expositions, de l'ordre de 8 jours pendant cette période, peuvent induire cette sensibilité.

Hiéarchisation des déterminants environnementaux

Le rôle des conditions abiotiques et notamment celui de l'interaction hygrométrie x température a été replacé par rapport aux autres causes potentielles. Les insectes : thrips (*Haplothrips tritici*) seraient capables de provoquer la moucheture du blé par la présence des jeunes larves se glissant dans le sillon du grain et piquant le péricarpe au moment où le grain atteint l'état laiteux. Le développement de champignons tels *Microdochium nivale* appartenant à la famille des *Fusarium* semblerait corrélé à des niveaux importants de moucheture.

Les conditions climatiques identifiées précédemment comme étant les plus favorables à l'apparition de la moucheture se révèlent être aussi les plus favorables au développement de champignons tels *M. nivale* et à la prolifération d'insectes piqueurs tels les thrips. Une hypothèse serait que les conditions abiotiques ne sont pas la cause directe de la moucheture mais une des causes indirectes.

Dans le but de vérifier cette hypothèse, des expérimentations ont été mises en place en serres et en enceintes climatiques afin de contrôler au mieux les conditions environnementales nécessaires à la prolifération des insectes ou au développement du champignon.

Sur une large gamme de variétés étudiées, des lots de plantes ont été soumis à l'action des thrips, d'autres ont été inoculés avec *M. nivale*, et d'autres enfin servaient de témoins. La présence ou l'absence de *M. nivale* sur l'ensemble des lots a pu être vérifiée par PCR qualitative.

La contamination des épis par *M. nivale* a accru le taux de moucheture moyen des variétés. De plus, les lots traités par *M. nivale* présentaient une tache large typique de la présence de *M. nivale*. Les lots témoins ne présentaient pas ce type de moucheture mais leurs grains portaient tout de même des traces fines, brunes à noires, vraisemblablement dues à leur exposition aux conditions environnementales créées pour permettre les contaminations par *M. nivale*. Nous avons donc pu constater que les grains contaminés présentaient les symptômes fins de la moucheture abiotique et ceux plus larges de *M. nivale*, permettant une reconnaissance visuelle des 2 types de moucheture.

La présence de thrips sur les épis de blé a également provoqué une forte augmentation du taux de mouche-

ture. Contrairement à *M. nivale* qui a provoqué des taches brunes à noires, les thrips ont provoqué seulement des taches fines et essentiellement noires (plus de 80% de la moucheture est noire).

Conclusions

Cette étude est la première à notre connaissance, qui permet de comparer sur du matériel végétal identique, l'impact des 3 agents repérés dans la bibliographie comme capables de causer la moucheture. Le matériel végétal utilisé a de plus, l'intérêt de représenter une large gamme connue de sensibilité à la moucheture. Il ressort clairement de cette étude divers points : (i) les trois agents incriminés dans la littérature sont capables chacun de provoquer l'apparition de moucheture ; (ii) la coloration et l'intensité des taches varient selon l'agent causal. Ainsi, ce sont essentiellement des taches brunes et larges qui sont observées lorsque les grains ont été au contact de *M. nivale* alors que les thrips provoquent des spots de couleur noire intense ; (iii) les variétés présentent des sensibilités différentes aux 3 agents. Une variété (A), connue pour présenter des taux de moucheture importants, n'est apparemment pas du tout sensible à *M. nivale*. Par contre, les thrips ou des conditions abiotiques favorables sont capables d'entraîner des taches noires sur les grains de cette variété. Les variétés telles H ou O, toutes 2 sensibles à *M. nivale*, réagissent différemment pour les autres agents causaux ; (iv) les larves de thrips sont capables de causer des taches noires par simple action mécanique de piqûre sans qu'il y ait nécessairement d'inoculation de vecteurs pathogènes à l'intérieur du grain.

Conclusion Générale

La forte régionalisation de sa production, l'existence d'une filière de taille restreinte très organisée, un cahier des charges des transformateurs extrêmement précis, un questionnement pertinent émanant d'acteurs locaux sont autant d'éléments faisant du blé dur un modèle d'étude particulièrement adapté à l'analyse des interactions entre qualité et territoire, et du rôle que peut jouer la recherche en partenariat.

L'amélioration qualitative de la production de blé dur a servi de catalyseur à cet effort de recherche et les avancées académiques ont été développées dans un souci constant de transfert et d'utilisation rapide des résultats par la filière. Les facteurs déclenchant les phénomènes de moucheture ou mitadinage ont pu être identifiés. L'acquisition de connaissances nouvelles dans ce domaine pourra permettre d'ouvrir la voie à de nouvelles stratégies à mettre en œuvre en matière de sélection et intensifier les efforts de création de matériel élite. Des travaux sont à poursuivre pour préciser l'influence respective des facteurs génétiques et environnementaux.

Le partenariat mobilisé autour des questions de recherche disciplinaires a permis de produire des connaissances utiles pour l'action, qui seront mises à profit pour réfléchir au développement de systèmes de culture durables où le blé dur conserve une place privilégiée.

M.F. Samson UMR 1208 Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes (IATE)
D. Desclaux UMR 1097 Diversité et Génome des Plantes Cultivées (DGPC)

Pour en savoir plus :

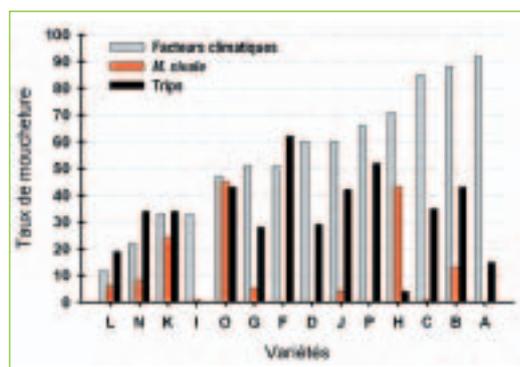
Chéret, R., Morel, M.-H., et Samson, M.-F. 2003. Caractérisation physico-chimique du mitadinage chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). *Ind. Céréales*, 131 : 14-15.

Desclaux, D. 2000. Environmental conditions inducing black-point symptoms in durum wheat. "Durum wheat improvement in the mediterranean region : New challenges", CIHEAM-CIMMYT-ICARDA, 12-14 April, Zaragoza, Spain.

Desclaux, D., Samson, M.-F., Caron, D., Roumet, P., Braun, P., Gaspard, M., Poirier, S. et Compan, F. 2005. Qualité du Blé dur en Zone Traditionnelle : Diagnostic en Partenariat et Avancées Multidisciplinaires. *Symposium international INRA-PSDR "Territoires et enjeux du développement régional"*, 9-11 mars, Lyon, France.

Gorretta, N., Roger, J.M., Aubert, M., Bellon-Maurel, V., Compan, F. et Roumet, P. (soumis). Determining vitreousness of durum-wheat kernels using NIR hyperspectral imaging. *J. Near Infrared Spectr.*

Samson, M.-F., Mabilbe, F., Chéret, R., Abécassis, J. and Morel, M.-H. 2005. Mechanical and physicochemical characterization of vitreous and mealy durum wheat endosperm. *Cereal Chem.*, 82 : 81-87.



Taux de moucheture de 14 variétés soumises à des stress abiotiques (facteurs climatiques) ou biotiques (Thrips ou *M. Nivale*).