

GlutNsafe : « Vers la sélection de variétés de blés au gluten plus digestible ? »

Mélanie LAVOIGNAT^{1,2}, Sylvain DENIS³, Annie FAYE¹, Laura HALUPKA⁴, Sibille PERROCHON¹, Larbi RHAZI⁵, Sébastien DEJEAN⁶, Pascal GIRAUDEAU⁷, Gérard BRANLARD¹, Catherine RAVEL^{*1}, Emmanuelle BANCEL¹

1 - Université Clermont Auvergne-INRAE, UMR1095 GDEC 5 chemin de Beaulieu 63000 CLERMONT-FERRAND

2 - AgroParisTech 16 rue Claude Bernard 75005 PARIS

3 - Université Clermont Auvergne-INRAE UMR454 MEDiS CLERMONT-FERRAND

4 - CereLab 21110 Aiserey

5 - UniLaSalle 19 Rue Pierre Waguet 60000 Beauvais

6 - Institut de Mathématiques de Toulouse UMR5219 Université de Toulouse CNRS UPS 31062 TOULOUSE cedex 9

7 - Représentant l'UFS 17, rue du Louvre 75001 PARIS

***Coordinateur** : Catherine RAVEL, catherine.ravel@inrae.fr

1 Introduction

Le blé est à la base de l'alimentation humaine. Consommé généralement sous forme de produits transformés, il couvre plus de 20 % des besoins en énergie et en protéines des adultes et constitue également une source importante de fibres. Les protéines de la farine représentent 10 à 15 % de la matière sèche. Elles sont constituées pour environ 20 % de protéines fonctionnelles, les albumines-globulines, et pour environ 80 % par de protéines de réserve. Ces dernières regroupent environ 60 % de gluténines et 40 % de gliadines (Seilmeier *et al.*, 1991). Les gluténines sont subdivisées en sous-unités de haut poids moléculaires (GHPM) et de faible poids moléculaires (GFPM). Les gliadines sont classées en α/β -, γ -, et ω -gliadines selon leur mobilité électrophorétique. La teneur et la composition en protéines du grain de blé dépendent de facteurs génétiques et environnementaux et de leurs interactions au cours du développement de la plante (Afzal *et al.*, 2020 ; Branlard *et al.*, 2001). Les protéines de réserve sont codées par des gènes de structure appartenant à des familles multigéniques connues pour leur grande diversité. L'expression de ces gènes est finement régulée par un réseau transcriptionnel bien conservé chez les dicotylédones. Cependant, des différences existent quant à cette régulation entre les familles de plantes et aussi entre les gènes de protéines de réserve comme le montrent Plessis *et al.* (2013) qui pointent que la régulation des gluténines se distingue de celle des gliadines. Les facteurs environnementaux, comme la nutrition azotée et soufrée des plantes, affectent également la teneur en protéines et la composition du grain (Yu. *et al.*, 2021 ; Bonnot *et al.*, 2017) qui sont des paramètres clés de la qualité des blés.

La qualité technologique de la farine, liée aux protéines de réserve, détermine le type de transformation et d'utilisation finale du blé. Le réseau de gluten qui se forme dans la pâte, après hydratation et pétrissage de la farine, est à l'origine de cette qualité. Ce réseau provient de l'agrégation des protéines de réserve et confère à la pâte des propriétés uniques de visco-élasticité. Comme décrit dans la revue de Johansson *et al.* (2013), les GHPM peuvent former des polymères de grande taille par le biais de ponts disulfures. Ces polymères constituent le squelette du gluten. Ils sont responsables de l'élasticité et

la ténacité de la pâte. Les GFPM se lient au squelette du gluten par ponts disulfures. Les gliadines monomériques s'agrègent aux polymères de gluténines par liaisons non-covalentes (Lamacchia *et al.*, 2014), bien que certaines d'entre elles, riches en soufre, puissent également s'associer aux polymères par des ponts disulfures intermoléculaires (Johansson *et al.*, 2013). Les gliadines sont à l'origine des propriétés d'extensibilité de la pâte. En conférant force et extensibilité à la pâte, le gluten est essentiel à la panification.

La qualité nutritionnelle des protéines du grain de blé est influencée par leur digestibilité et leur composition en acides aminés (AA), notamment par la proportion d'AA essentiels (qui ne peuvent être synthétisés par les animaux) qu'elles contiennent. Cette digestibilité dépend notamment des procédés de transformation, de facteurs antinutritionnels et aussi de la structure et de la composition protéique (Joye, 2019; Rieder *et al.*, 2021). Comme le rappellent Shewry & Hey (2015), les protéines de réserve du blé, sont pauvres en lysine (comme beaucoup de protéines végétales), AA essentiel. Elles sont riches en proline et glutamine (respectivement 10-30 % et 30-50 % selon la fraction protéique). L'inconvénient de cet apparent bénéfice vient de la résistance partielle aux enzymes gastrointestinales des peptides riches en ces deux AA. En effet, certains de ces peptides sont encore intacts quand ils atteignent la muqueuse intestinale ce qui peut entraîner des réactions adverses telles que la maladie cœliaque ou l'allergie au blé. Ces deux pathologies reposent sur des réponses immunitaires. Les symptômes et la pathogénèse de ces maladies sont bien connus. Des biomarqueurs existent et le rôle du gluten dans ces pathologies est clairement établi (Scherf *et al.*, 2016). La sensibilité au gluten non cœliaque (SGNCNA), ou sensibilité au gluten, est un trouble de santé associé à l'ingestion d'aliments contenant du gluten, chez certains individus qui ne sont ni cœliaques ni allergiques au blé. Le médecin ne dispose d'aucun biomarqueur diagnostique de la SGNCNA et il y a toujours une incertitude quant aux composants du blé à l'origine de cette sensibilité. Trois composants pourraient être impliqués, le gluten, des inhibiteurs d'amylase-trypsine (IAT) ou des FODMAPS (fermentable oligo, di, monosaccharides and polyols, notamment le fructane pour le blé) (Catassi, 2015).



Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer l'augmentation de la prévalence des troubles associés au gluten que l'on observe aujourd'hui. Branlard *et al.* (2020), après avoir étudié les caractéristiques des polymères de gluténines dans un panel de 192 accessions de blé tendre, suggèrent que l'augmentation de leur masse moléculaire expliquerait l'augmentation de la prévalence de SGNCNA. Sapone *et al.* (2012) suggèrent que la sélection variétale est une autre explication possible. La sélection a longtemps pris en compte des critères technologiques plutôt que nutritionnels, ce qui a conduit à une augmentation de la force du gluten (augmentation du paramètre W mesurée par l'alvéographe Chopin) par le biais d'une diminution du ratio gliadines/gluténines (donc une modification de la composition). En ce qui concerne les épitopes cœliaques, plusieurs auteurs ont comparé variétés anciennes et modernes. A ce jour, il n'y a pas de consensus sur la question de savoir si la sélection a conduit ou non à l'augmentation de la prévalence des épitopes cœliaques (Malalgoda *et al.*, 2018; Prandi *et al.*, 2017; Pronin *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2016; van den Broeck *et al.*, 2010). Cependant, Shewry (2018) a souligné la grande variabilité dans l'abondance des épitopes cœliaques. Alors que de nombreuses études ont ciblé l'abondance des épitopes cœliaques chez les espèces de blé, peu d'études ont exploré la digestibilité des protéines du blé et sa variabilité. La digestibilité in vitro des protéines de pains obtenus à partir de la farine d'un seul génotype, pour un échantillon comprenant deux landraces et 19 cultivars de blé tendre inscrits entre 1901 et 2013, a été mesurée par dosage des groupes amines primaires et montre une variabilité génétique (Gulati *et al.*, 2020). Ma et Baik (2021) ont étudié une plus grande gamme de variabilité, incluant des blé modernes (blé tendre, blé dur et blé compact) et des blé anciens (épeautre, amidonnier et engrain), et déterminé la digestibilité in vitro des protéines de farines et de fractions protéiques. La variabilité pour les données de digestibilité in vitro des protéines a été comparée à la variabilité des phénotypes. Des relations significatives ont été identifiées entre la dureté du grain, la composition protéique et la digestibilité in vitro des protéines.

Sélectionner des variétés de blé tendre (*Triticum aestivum*) capables de donner des pains dont les protéines seraient facilement hydrolysées dans le système digestif humain (protéines hautement digestibles) pourrait être un moyen de proposer des pains que pourraient tolérer les personnes SGNCNA. Dans ce contexte, l'objectif de notre travail était d'étudier la variabilité de la digestibilité in vitro des protéines de pains élaborés selon un processus standard. Nos deux hypothèses étaient que 1) les polymères protéiques de masse élevée limitent la digestibilité des protéines du pain et 2) les variétés de blé modernes diffèrent des variétés plus anciennes pour la digestibilité des protéines. Pour tester ces deux hypothèses, 17 variétés de blé panifiable différant par les caractéristiques de leurs polymères protéiques et par leur période d'inscription ont été sélectionnées dans un ensemble de 75 lignées cultivées en deux lieux et phénotypées pour la teneur et la composition en protéines du grain, les caractéristiques des polymères de la farine et les propriétés technologiques de la pâte.

Selon Evenson et Gollin (2003), le développement de variétés modernes de blé et d'autres cultures a commencé à la fin des années 1950 avec la révolution verte. Pour le blé, cette révolution est marquée par l'introgession de gènes de nanisme conduisant à des cultivars plus courts et plus productifs qui ont rapidement supplantés ceux « pré-révolution verte ». Par conséquent, dans ce travail, nous avons considéré la révolution verte comme la limite entre variétés anciennes et variétés modernes.

2 Matériel et méthode

► 2.1 - Caractérisation phénotypique et génotypique de 75 cultivars afin d'identifier des accessions contrastées à panifier

Soixante-quinze accessions de blé tendre représentatives de différentes périodes de diffusion de 1850 à 2016 et des variétés de pays ont été semées à Estrées-Mons (EM) et Clermont-Ferrand (CF), avec deux répétitions par lieu, en 2016. Ces deux lieux appartiennent à des réseaux différents pour l'inscription de nouvelles variétés de blé d'hiver panifiable en France et diffèrent donc pour leurs conditions pédoclimatiques. Nous avons considéré comme variétés modernes celles inscrites après 1960. Fournies pour la plupart par les sélectionneurs de l'UFS, ces variétés modernes sont largement utilisées par les agriculteurs et généralement bien adaptées à la panification.

Toutes les accessions ont été génotypées avec la puce Axiom BreedWheat 35k (TaBW35K) contenant 34 746 marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Les caractéristiques du grain, la composition protéique, les propriétés technologiques de la pâte, les caractéristiques des polymères de la farine (Tableau S1) ont été mesurés comme décrit dans Lavoignat *et al.* (soumis en mars 2022), et les allèles de GHPM identifiés par SDS-PAGE. La classification hiérarchique des 75 variétés, sur la base de leurs caractères phénotypiques, a permis de sélectionner 17 variétés représentatives de chaque groupe d'âge et de la diversité présente dans le matériel de départ (Tableau 1).

Pour ces 17 variétés, les grains des deux répétitions par génotype et par lieu, qui donnaient des résultats très proches, ont été rassemblés. Cet-ensemble de 17 variétés x 2 environnements a été utilisé pour la panification et la digestion in-vitro. Seules 33 combinaisons ont été considérées car la quantité de grains récoltés à CF pour le génotype W-62 était trop faible.

► 2.2 - Panification

Pour chaque génotype et chaque environnement, les grains du mélange des deux répétitions ont été moulus en farine T65 selon la directive BIPEA 102 D 1411. Les pains ont été fabriqués selon la norme AFNOR de panification française (NF V03-716 : 2015-12 - farine de blé tendre - essais de panification pour le pain français standard). Le volume du pain a été déterminé à l'aide d'un volumètre.

Nom de la variété	Génotype	Catégorie d'âge	Période d'inscription ¹	Glu-A1 ²	Glu-B1	Glu-D1
Cellule	W-04	moderne	2011-2016	b	d	d
Rubisko	W-16	moderne	2011-2016	c	b	a
RGT Velasko	W-18	moderne	2011-2016	c	i	d
Izalco CS	W-22	moderne	2011-2016	b	b	d
Osmose CS	W-24	moderne	2011-2016	c	a	d
Camp Remy	W-27	moderne	1961-1980	b	a	b
Recipro	W-33	moderne	2011-2016	b	d	d
Skerzco-NamBI	W-39	moderne	2011-2016	a	b	a
Skerzco-NamNormal	W-40	moderne	2011-2016	a	b	a
LR-Rosso delle Langhe	W-44	ancienne	< 1800	a	b	b
Richelle	W-50	ancienne	1850-1940	a	e	d
Tramy-Puy de Dome	W-53	ancienne	1850-1940	b	c	d
Artois-Desprez	W-59	ancienne	1941-1960	a	a	a
Daeraad	W-62	ancienne	1941-1960	b	i	a
Tahti	W-64	ancienne	1941-1960	a	c	d
Glenlea	W-68	moderne	1961-1980	b	al	d
Blé de Redon Blanc 1/2 Lache 11	W-74	ancienne	< 1800	a	f	a

¹ Les variétés de pays sont classées comme anciennes avec une période d'inscription notée "< 1800".

² Les allèles de GHPM aux loci Glu-A1, Glu-B1 et Glu-D1 sont identifiés selon le système de numérotation de Payne et Lawrence (1983).

Tableau 1 : Les 17 cultivars de blé tendre étudiés.

► 2.3 - Digestion *in vitro* des pains

Les échantillons de pain ont été digérés *in vitro* avec le modèle de tractus gastro-intestinal TNO TIM-1 (TNO, Zeist, Pays-Bas), bien décrit (Dupont *et al.*, 2019 ; Blanquet-Diot *et al.*, 2012). Ce système est constitué de quatre compartiments successifs simulant la dynamique et les conditions de la digestion dans l'estomac et les trois segments de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon). Le modèle intègre les principaux paramètres physico-chimiques de la digestion humaine tels que la température, le pH, les profils de transit et les sécrétions gastriques, pancréatiques et biliaires. Le système reproduit l'absorption passive des produits de la digestion et la réabsorption active de l'eau à l'aide de membranes à fibres creuses (SF 90G, Nipro, Japon) reliées aux compartiments jéjunal et iléal. Dans cette étude, le TIM-1 a été programmé pour simuler la digestion d'un repas solide chez un adulte en bonne santé, comme décrit par Blanquet-Diot *et al.* (2012) avec de légères modifications. Pour simplifier l'analyse des données et se concentrer sur la dégradation du gluten, les repas étaient constitués uniquement de pain préparé en écrasant 56 g de pain congelé dans 73,3 ml de simulant salivaire (877 mg ml⁻¹ NaCl, 477 mg ml⁻¹ KCl, 816,4 mg ml⁻¹ KH₂PO₄, 441 mg ml⁻¹ CaCl₂.2H₂O, 5,2 g ml⁻¹ NaHCO₃.2H₂O, pH ajusté à 6,95 avec HCl) et 200,7 ml d'eau minérale. Avant de commencer la digestion, 10 290 U d'alpha-amylase (α -Amylase de Bacillus sp., réf. 10069, Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA) ont été mélangés à 300 g d'aliment pendant 30 sec. Le mélange a ensuite été introduit dans le compartiment stomacal. Les digestions ont été arrêtées après 2 h, soit la moitié de la durée d'une digestion complète moyenne, afin d'obtenir une hydrolyse partielle du gluten. Les contenus gastrique et jéjunal ont été collectés séparément. Des échantillons de dialysats jéjunal et iléal cumulés, d'effluents iléaux cumulés et de contenus duodénaux et iléaux regroupés ont également été prélevés pour déterminer leur teneur en azote. Tous les échantillons ont été rapidement congelés à -20°C. Chaque pain a été digéré en deux répétitions. Une digestion à blanc, sans pain, a été traitée pour éliminer

les valeurs correspondant aux sécrétions digestives afin d'évaluer uniquement la digestion *in-vitro* des protéines du pain.

► 2.4 - Variables synthétiques pour refléter la digestibilité des protéines à partir d'un bilan azoté

La teneur en azote des digestats a été quantifiée par avec un analyseur élémentaire (Thermo modèle Flash EA 1112 Séries, Thermo Finnigan, USA) selon la méthode de Dumas (Dumas, 1831). Après décongélation, les échantillons ont été analysés en deux répétitions techniques. Pour cela, ils ont été placés dans des doubles capsules en étain (8 x 5mm et 10 x 10mm) pour éviter toute fuite. Les volumes de digestats liquides analysés ont été adaptés en fonction de leur compartiment d'origine, de façon à rester dans la gamme d'étalonnage : 50 μ l pour les échantillons TO, c'est-à-dire les mélanges introduits dans le compartiment de l'estomac, 100 μ l pour les échantillons du jéjunum, 150 μ l pour les échantillons de l'estomac, du mélange duodénum-iléum, de fractions digérées post-jéjunum et de fraction non digérée, et 600 μ l pour la fraction digérée post-iléon. Les échantillons TO et estomac contenant quelques morceaux de pain ont été broyés dans la glace à l'aide d'un broyeur Polytron PT1000, n°2336 (20 000 RPM, 10 secondes). Avant analyse, tous les digestats liquides ont été séchés pendant 24 h à 60°C (en parallèle de deux blancs avec de l'eau minérale uniquement). Pour chaque échantillon, la moyenne des deux répétitions d'analyses a été calculée. Une variable synthétique basée sur le bilan azoté a été créée pour refléter la digestibilité partielle des protéines (DPP) de chaque pain après 2 h de digestion. Elle correspond au rapport de l'azote dans la fraction digérée-absorbée (c'est-à-dire les dialysats jéjunal et iléal, Nfraction digérée-absorbée) sur l'azote total dans toutes les fractions (Ntoutes les fractions) :

$$DPP = 100 * \frac{N_{\text{fraction digérée-absorbée}}}{N_{\text{toutes les fractions}}}$$

La DPP varie en théorie de 0 % (aucune digestion des protéines) à 100 % (digestion complète des protéines).

► 2.5 - Analyses statistiques

Les données ont été analysées sous R version 4.0.5.

2.5.1 - Construction d'une matrice de distances génétiques

Le génotypage a donné des résultats de bonne qualité pour toutes les lignées à l'exception de W-59 qui a été écartée de cette analyse. Afin de faciliter l'intégration des données génétiques et phénotypiques, les marqueurs SNP polymorphes ont été utilisés pour calculer, par chromosome, la distance entre la variété considérée et Renan ((W-15), variété d'hiver inscrite en 1990 connue pour une bonne qualité boulangère, que nous avons choisie comme référence. Cette distance correspond à 1 - SSM. SSM est l'indice de similarité de Sokal et Michener (Sokal and Michener, 1958) pour données binaires. Il est calculé pour chaque chromosome.

2.5.2 - Analyse de la variance

Un modèle fixe d'ANOVA hiérarchisée a été appliqué aux données. Pour toutes les variables, ce modèle comprend les facteurs environnement (lieu de l'essai), répétition, catégorie d'âge, génotypes hiérarchisés dans les catégories d'âge et leurs interactions deux à deux. La normalité de la distribution des résidus et l'homogénéité de la variance ont été testées à l'aide, respectivement, des tests de Shapiro et de Bartlett.

Pour la suite, 14 valeurs extrêmes (c'est-à-dire avec une valeur absolue des résidus standards de l'ANOVA > 2) ont été retirées et la moyenne des deux répétitions a été calculée. L'effet de l'environnement étant significatif pour la plupart des variables phénotypiques, les données ont été ajustées en retirant cet effet estimé par l'ANOVA. Plus précisément, la différence entre la moyenne générale et la moyenne par environnement a été calculée et les valeurs individuelles ont été ajustées à l'aide de cette différence.

2.5.3 - Classification hiérarchique

Les 33 échantillons (16 variétés de chaque environnement et W-62 à EM) ont été regroupés à l'aide d'une classification hiérarchique, prenant en compte le rendement en grains et la teneur en protéines, après correction de l'effet environnement. La distance euclidienne et la méthode d'agrégation de Ward ont été appliquées à l'aide du paquet stats de R.

2.5.4 - Analyse factorielle multiple

Afin d'explorer les relations entre les traits phénotypiques et la DPP, une analyse factorielle multiple (AFM), appliquée sur les données ajustées de l'effet environnemental et centrées et réduites, a été réalisée à l'aide de FactoMineR. Cette analyse multidimensionnelle est bien adaptée aux données structurées en groupes de variables. Elle permet d'analyser à la fois des variables catégorielles et quantitatives et préserve la structure des groupes (Bécue-Bertaut & Pagès, 2008 ; <http://factominer.free.fr>). L'AFM fonctionne comme l'analyse en composantes principales pour les variables quantitatives et comme l'analyse des correspondances multiples pour les variables qualitatives. Elle considère la structure multidimensionnelle des données, en intégrant simultanément plusieurs groupes de variables pour étudier les distances entre individus. Nous avons spécifié sept groupes de variables (Tableaux 2 et S1). Toutes les variables liées à 1) la composition des protéines, 2) les caractéristiques technologiques, 3) les caractéristiques des polymères de la farine et 4) les distances génétiques ont été utilisées pour générer

les quatre groupes actifs, qui participent au calcul des axes. Les trois groupes restants ont été définis comme illustratifs. Ils concernent 1) la digestibilité (avec DPP comme variable), 2) la dureté du grain et le poids de mille grains, et 3) les facteurs de l'ANOVA (génotype, catégorie d'âge, environnement) et les allèles de GHMP. En raison de l'absence de distances génétiques pour W-59, cette variété n'a pas été considérée pour l'AMF.

3 Résultats et Discussion

Dix-sept variétés de blé tendre, cultivées en deux lieux, ont été phénotypées et panifiées. L'analyse de la variance a montré une absence de différence significative entre les répétitions pour la plupart des traits phénotypiques (Tableau 2). Par conséquent, les grains des deux répétitions par lieu ont été regroupés pour être transformés. Les pains standards produits ont été digérés in vitro. Les graphiques des individus de l'AMF ont montré que les deux répétitions de digestion sont généralement proches les unes des autres. Ainsi, la DPP a été calculée en utilisant les données moyennes par digestion.

► 3.1 - L'environnement et la catégorie d'âge de la variété influencent les traits phénotypiques mais pas la digestibilité partielle des protéines

Le facteur environnement affecte significativement au seuil α de 5 % tous les traits phénotypiques (Tableau 2), à l'exception du rayon de giration moyen en poids des polymères. Le rendement moyen en grains à EM est en moyenne supérieur de 1000 kg/ha à celui de CF, tandis que la teneur en protéines de CF est en moyenne supérieure de 2 % à celle d'EM. La teneur en protéines varie de 9,40 % à 17,55 %. Elle est significativement influencée par l'interaction environnement x catégorie d'âge ($p < 0,001$). Le pourcentage de protéines de réserve par rapport aux protéines totales dépend principalement de l'environnement qui explique plus de 70 % de la variation totale. La fraction moyenne des protéines de réserve dans les protéines totales est environ 20 % plus élevée à CF qu'à EM (respectivement 77,02 % et 59,10 % des protéines totales). L'interaction environnement x génotype influence significativement toutes les caractéristiques des polymères de la farine ($p < 0,001$). Pour les propriétés technologiques, plus de 50 % de la variation est expliquée par les génotypes (Tableau 2).

L'indice de digestibilité DPP ne dépend ni de l'environnement ($p = 0,163$), ni de la catégorie d'âge de la variété ($p = 0,816$) (Tableau 2 ; Figure 1). La DPP moyenne des individus à CF est de 54,80 %. Elle atteint 53,44 % à EM. Il n'y a pas de différence entre la DPP moyenne des variétés modernes et des variétés anciennes (respectivement 54,16 % et 54,06 %). La digestibilité réelle des protéines du blé chez l'homme est d'environ 90 % et la récupération cumulée de l'azote alimentaire atteint 80 %, 4h après l'ingestion du pain (Bos *et al.*, 2005). La digestibilité in vitro des protéines du pain de farine blanche varie de 63 % (exprimée en % de petits peptides des protéines totales après 2h de phase gastrique et 2h de phase intestinale) (Rieder *et al.*, 2021) à 101 % (exprimée en digestibilité fécale réelle) (Gilani *et al.*, 2005) et reflète bien la digestibilité in vivo des protéines du pain. Les valeurs moyennes de DPP obtenues à 2h de digestion sont cohérentes avec ces valeurs puisque nous sommes à mi-digestion.

Variable ¹	Pourcentage de variation expliquée						P value					
	E ²	r ²	CA ²	G ²	E x CA	E x G	E	r	CA	G	E x CA	E x G
rendement	20.11	1.26	34.35	33.36	2.46	3.60	0.000	0.031	0.000	0.000	0.001	0.140
dureté	0.58	0.52	5.49	76.38	1.99	11.63	0.031	0.117	0.000	0.000	0.000	0.000
PMG	21.22	0.61	20.77	47.64	1.37	6.05	0.000	0.035	0.000	0.000	0.000	0.000
GNC	0.61	0.05	45.16	47.83	0.07	3.98	0.008	0.695	0.000	0.000	0.347	0.001
p.Ptot	29.13	0.45	28.54	32.72	3.21	2.53	0.000	0.155	0.000	0.000	0.000	0.141
HPM.sur.FPM	32.01	1.33	0.40	45.41	0.06	9.17	0.000	0.210	0.330	0.000	0.746	0.129
gli.sur.glu	4.75	0.23	44.42	41.75	1.31	2.61	0.000	0.498	0.000	0.000	0.008	0.372
pHPM.Ptot	1.84	1.37	17.92	58.86	0.76	9.23	0.029	0.155	0.000	0.000	0.149	0.069
pFPM.Ptot	57.92	0.03	15.88	17.79	0.12	3.74	0.000	0.905	0.000	0.000	0.382	0.093
pglu.Ptot	45.41	0.19	20.39	23.97	0.19	5.38	0.000	0.544	0.000	0.000	0.266	0.014
pw5.Ptot	36.49	0.23	8.10	45.16	0.19	3.77	0.000	0.582	0.000	0.000	0.348	0.271
pw1.2.Ptot	3.41	0.42	17.51	59.15	3.50	8.75	0.001	0.440	0.000	0.000	0.001	0.018
pab.Ptot	35.93	0.99	14.78	36.04	1.57	5.60	0.000	0.069	0.000	0.000	0.005	0.024
pg.Ptot	47.67	0.24	11.62	29.95	1.55	4.50	0.000	0.459	0.000	0.000	0.003	0.039
pgli.Ptot	48.33	0.57	16.25	24.64	1.73	4.57	0.000	0.129	0.000	0.000	0.001	0.017
pPR.Ptot	73.79	0.53	0.00	16.84	0.38	5.04	0.000	0.117	0.949	0.000	0.078	0.004
pAG.Ptot	73.79	0.53	0.00	16.84	0.38	5.04	0.000	0.117	0.949	0.000	0.078	0.004
P	3.54	0.53	4.84	80.55	0.38	4.21	0.000	0.281	0.000	0.000	0.180	0.166
L	23.37	0.70	4.39	60.64	0.00	6.04	0.000	0.153	0.000	0.000	0.936	0.020
W	7.13	0.61	4.10	81.18	1.14	2.96	0.000	0.058	0.000	0.000	0.002	0.035
hum.glut	16.59	0.12	26.40	53.91	0.09	1.34	0.000	0.368	0.000	0.000	0.218	0.124
sec.glut	13.44	0.09	25.99	58.44	0.22	0.43	0.000	0.427	0.000	0.000	0.047	0.841
GI	1.33	0.00	42.34	51.24	0.69	3.23	0.000	0.967	0.000	0.000	0.000	0.000
volume.pain	17.13	NA	1.34	58.70	0.83	NA	0.005	NA	0.371	0.048	0.479	NA
F_Confo	14.41	0.29	0.29	39.85	0.10	41.01	0.000	0.360	0.129	0.000	0.354	0.000
F_Mw	18.20	0.50	3.90	44.09	0.29	30.34	0.000	0.077	0.000	0.000	0.083	0.000
F_Polydis	25.56	0.87	1.82	44.68	2.55	21.26	0.000	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000
F_Rw	0.32	0.01	0.67	60.56	4.29	30.76	0.103	0.969	0.021	0.000	0.000	0.000
F_Rh.w	3.03	0.08	10.47	62.58	2.93	19.07	0.000	0.531	0.000	0.000	0.000	0.000
F_qté.polym	39.00	0.08	0.15	35.18	1.82	20.75	0.000	0.663	0.235	0.000	0.000	0.000
DPP	2.39	1.37	0.11	42.65	3.76	17.90	0.163	0.551	0.816	0.013	0.080	0.383

¹ Les variables sont explicitées dans le tableau S1. Les couleurs indiquent les groupes de variables de l'AFM. Caractéristiques des polymères (bleu), la composition protéique (vert) et les propriétés technologiques (marron) sont des groupes de variables actifs. La DPP ainsi que le PMG sont des groupes de variables illustratifs (orange).

² E, environnement ; r, répétitions ; CA, catégorie d'âge ; G, génotype.

Tableau 2 : Pourcentage de variance expliquée et p-value de l'ANOVA hiérarchisée pour 31 variables.

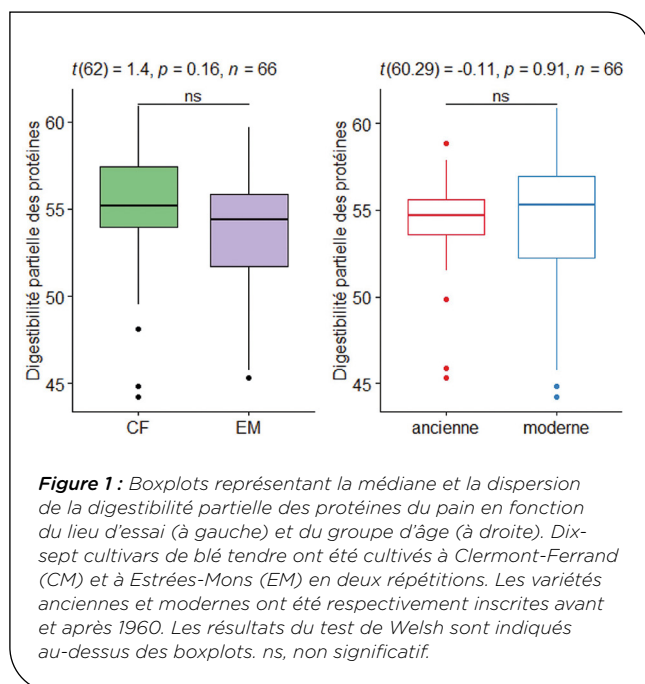


Figure 1 : Boxplots représentant la médiane et la dispersion de la digestibilité partielle des protéines du pain en fonction du lieu d'essai (à gauche) et du groupe d'âge (à droite). Dix-sept cultivars de blé tendre ont été cultivés à Clermont-Ferrand (CM) et à Estrées-Mons (EM) en deux répétitions. Les variétés anciennes et modernes ont été respectivement inscrites avant et après 1960. Les résultats du test de Welch sont indiqués au-dessus des boxplots. ns, non significatif.

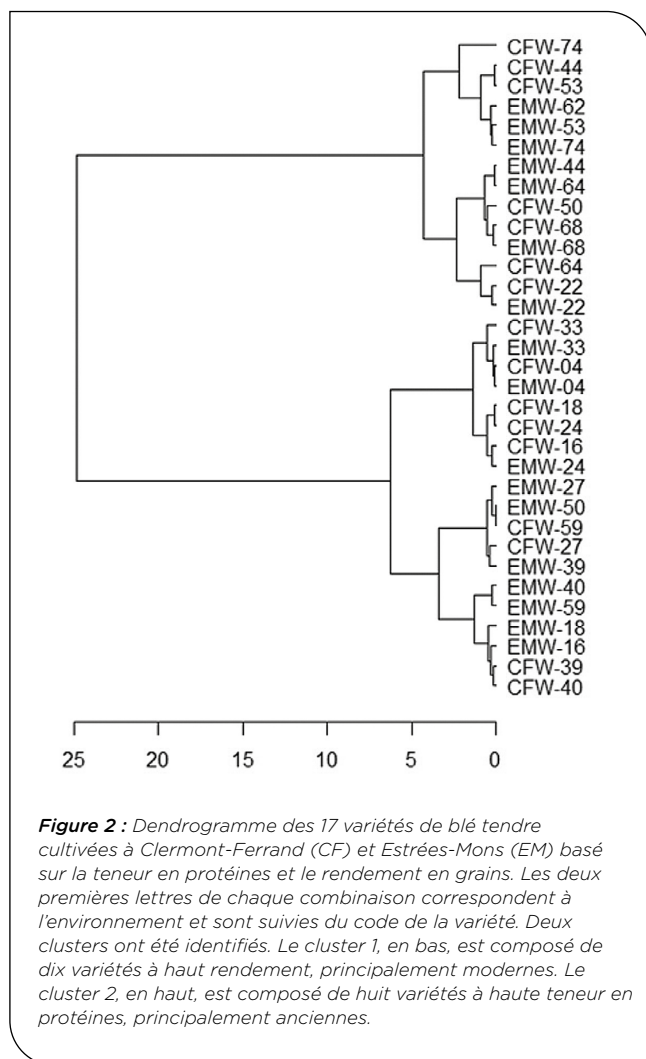
Considérant que tous les traits phénotypiques varient entre les deux environnements, l'ensemble des données a été ajusté pour cet effet afin de relier la DPP à la part génétique de chaque trait étudié.

► 3.2 - Les variétés sont regroupées en deux clusters

Bien que cultivées selon des pratiques agricoles similaires, les variétés ont montré des performances agronomiques diverses avec des différences de teneur en protéines et de rendement en grains. Aussi, afin de regrouper les variétés ayant des performances agronomiques similaires, une classification hiérarchique a été réalisée sur la base des moyennes ajustées pour la teneur en protéines et le rendement en grains. La classification obtenue montre que les 17 variétés forment deux clusters (Figure 2).

Le cluster 1 compte 10 accessions inscrites après 1960, à l'exception de W-50 et W-59, qui avaient un rendement élevé dans nos conditions. Le cluster 2 comprend 8 accessions, toutes inscrites avant 1960, à l'exception de W-22, un blé de force. Ces 8 accessions sont caractérisées par leur richesse en protéines.

Le génotype W-50 est présent dans les deux clusters. Cultivé à CF, il se positionne avec les variétés à haute teneur en protéines alors que cultivé à EM, il se classe avec les variétés à haut rendement, ce qui suggère une forte interaction génotype x environnement pour ces deux caractères. La classification des cultivars dans ces deux groupes (haut rendement vs haute teneur en protéines) était attendue car elle reflète la corrélation négative bien établie entre le rendement en grains et la teneur en protéines des grains (Oury *et al.*, 2003).



► 3.2 - Les liens entre la digestibilité partielle des protéines et les variables phénotypiques différent pour le cluster 1 et le cluster 2

La classification hiérarchique indique clairement que le matériel utilisé est structuré en deux clusters. Par conséquent, une AFM par cluster a été réalisée. Pour chacune des AFM, la composition protéique, les caractéristiques des polymères, les caractéristiques technologiques et les distances génétiques étaient des groupes actifs. La dureté du grain et le poids de mille grains, la digestibilité ainsi que les facteurs ANOVA et les allèles de GHPM étaient quant à eux des groupes illustratifs.

Sur la base des deux AMF, les relations entre les variables ont été étudiées afin d'identifier les traits phénotypiques liés à la DPP.

Pour les génotypes du cluster 1 (cultivars productifs), les deux premières dimensions de l'AFM expliquent 49,9 % de la variabilité totale (Figure 3a). La DPP est bien projetée ($\cos^2 > 0,35$) sur la première dimension (corrélation = 0,62, $p < 0,01$) qui explique 29,1 % de la variation totale. La DPP a une relation positive avec la teneur en protéines totales (p.Ptot) (Figure 3a) sans que la régression linéaire sur ces deux variables ne soit significative (R^2 ajusté = 0,11, $p > 0,05$). De plus, la DPP a une relation positive avec la fraction des protéines de réserve dans les protéines totales du grain (pPR.Ptot), en particulier les gluténines HPM (pHPM.Ptot) et les γ -gliadines (pg.Ptot). La force boulangère (W) et l'extensibilité de la pâte (L), ainsi que le gluten sec et humide et le volume du pain, sont positivement corrélés à la fraction de gluténines (pglu.Ptot). Les propriétés technologiques sont également positivement corrélées à la DPP. La masse des polymères de la farine (F_Mw), leurs rayons (F_Rh.w et F_Rw) et la polydispersité (F_polydisp) sont indépendants de la DPP. La DPP est négativement associée aux fractions d'albumines-globulines (pAG.Ptot) et aux ω 5-gliadines (pw5.Ptot), qui se projettent à l'opposé. Pour le cluster 1, les farines des variétés avec une concentration en protéines élevée, riches en protéines de réserve mais pauvres en ω 5-gliadines et en albumines-globulines, montrent une protéolyse élevée après 2 h de digestion. Les relations entre la DPP, les fractions de protéines de réserve et d'albumines-globulines sont cohérentes avec les résultats de Ma et Baik (2021) qui ont constaté que la digestibilité *in vitro* des albumines et des globulines était inférieure à celle du gluten. De plus, la fraction des albumines peut contenir jusqu'à 20 % d'inhibiteurs d'amylase-trypsine (IAT) (Dupont *et al.*, 2011) qui peuvent, en inhibant la trypsine, augmenter la quantité de peptides non digérés (Geisslitz *et al.*, 2021). Ces IAT sont aussi partiellement résistants à la digestion enzymatique et induisent une réponse immunitaire innée (Zevallos *et al.*, 2017). Contrairement à ces résultats, Liu *et al.* (2021) ont observé une corrélation négative entre la digestibilité des protéines du pain et la teneur en protéines de la farine blanche. Cette différence pourrait résulter de différences dans les analyses (farine blanche vs farine complète, méthode de digestion *in vitro* statique vs dynamique, expression de la digestibilité des protéines du pain). En outre, notre analyse s'est concentrée sur un seul cluster composé de variétés productives (modernes), alors que Liu *et al.* ont considéré des cultivars commercialisés entre 1870 et 2013. Cependant, Liu *et al.* (2021) ont mis en évidence une augmentation de la proportion de GHPM et de la digestibilité du pain en fonction de l'année de mise sur le marché. Ici, nos résultats ont montré une forte corrélation positive entre la DPP et le pourcentage de GHPM. Aucune relation évidente n'a été identifiée entre les caractéristiques des polymères dans la farine et la DPP. Cela pourrait s'expliquer par des changements entre les polymères protéiques de la farine et ceux du pain dus à la panification.

Les deux premières dimensions de l'AFM réalisée avec les variétés du cluster 2 (variétés avec une concentration élevée en protéines), expliquent 52,5 % de la variabilité totale (Figure S1). La DPP est mal projetée dans ce premier plan ($\cos^2 < 0,05$). Sa projection est meilleure ($\cos^2 > 0,35$) sur le second plan

défini avec les troisième et quatrième composantes, qui expliquent respectivement 11,8 % et 9,2 % de la variation (Figure 3b). À l'exception de la fraction des ω 1.2-gliadines corrélée négativement à la DPP, aucun des traits phénotypiques étudiés montre une relation avec la DPP.

Pour les deux clusters, deux fractions de ω -gliadines, (pw5.Ptot et pw1.2.Ptot, respectivement pour les variétés des clusters 1 et 2) sont négativement corrélées à la DPP. Elles semblent se distinguer des autres classes de gliadines qui sont soit positivement corrélées (pour les cultivars productifs) soit indépendantes de la DPP (pour les cultivars riches en protéines). Une étude récente sur les assemblages de polymères de gluten a montré que les ω -gliadines se comportent différemment des α , β -et γ -gliadines, interagissant par des liaisons non covalentes avec les polymères de gluténines (Morel *et al.*, 2020).

Dans l'ensemble, les corrélations entre variables phénotypiques et DPP diffèrent entre les deux clusters. Après 2 h de digestion, la digestibilité des variétés du cluster 1 est associée à plusieurs traits phénotypiques tels que la composition protéique, tandis que la digestibilité des variétés du cluster 2 n'est liée à aucun trait phénotypique, à l'exception de la fraction des ω 1.2-gliadines. Ces résultats suggèrent que la DPP du pain des variétés modernes pourrait être indirectement améliorée en utilisant des variables corrélées à la DPP.

Les distances génétiques à Renan par chromosome ont également contribué à structurer l'inertie totale (Figures 3a et b), ce qui indique que des facteurs génétiques moduleraient également la DPP.

Pour les variétés du cluster 1, les distances pour les chromosomes 1B, 2A, 4D et 7D sont opposées à la DPP (Figure 3a). Pour les variétés du cluster 2, les distances pour les chromosomes 1B, 1D, 3B, 4A, 6B et 6D sont

négativement corrélées à la DPP (Figure 3b). Pour les deux clusters, la distance pour le chromosome 7B est positivement associée à la DPP. Les chromosomes des groupes 1 et 6 portent les gènes de protéines de réserve. Ils portent également des gènes impliqués dans leur régulation transcriptionnelle (Plessis *et al.*, 2013). De plus, ces auteurs ont souligné le rôle des chromosomes 6B et 7D dans la composition en gliadines et gluténines, respectivement. Cependant, ce travail ne permet pas de rechercher de marqueurs associés à la DPP par des approches de génétique d'association en raison de la petite taille de l'échantillon (17 accessions). En résumé, compte tenu des distances génétiques, des similitudes avec Renan pour neuf chromosomes (1B, 1D, 2A, 3B, 4A, 4B, 6B, 6D et 7D) favoriseraient la DPP du pain.

Enfin, l'analyse en AMF, nous a permis d'étudier simultanément les liens entre plusieurs variables qui peuvent différer de l'analyse de corrélation entre deux variables.

► 3.3 - Les génotypes diffèrent pour la digestibilité partielle des protéines du pain

Les valeurs de DPP pour W-74 et W-18 cultivés à EM ont été considérées comme des valeurs extrêmes sur la base des résidus standard et retirées de l'ANOVA. Le facteur « génotype » explique la plus grande partie (42,65 %) de la variation totale de la digestibilité (Tableau 2), ce qui confirme les résultats de l'AFM, tandis que la contribution des autres facteurs (environnement et catégorie d'âge) est faible. La résiduelle représente cependant un tiers de la variation totale. Ces résultats indiquent que la DPP ne dépend pas uniquement de facteurs génétiques. La DPP varie de manière significative entre les 17 accessions ($p < 0,05$), allant de 44,21 % pour W-24 (CF, rep2) à 60,89 % pour W-18 (CF, rep 2).

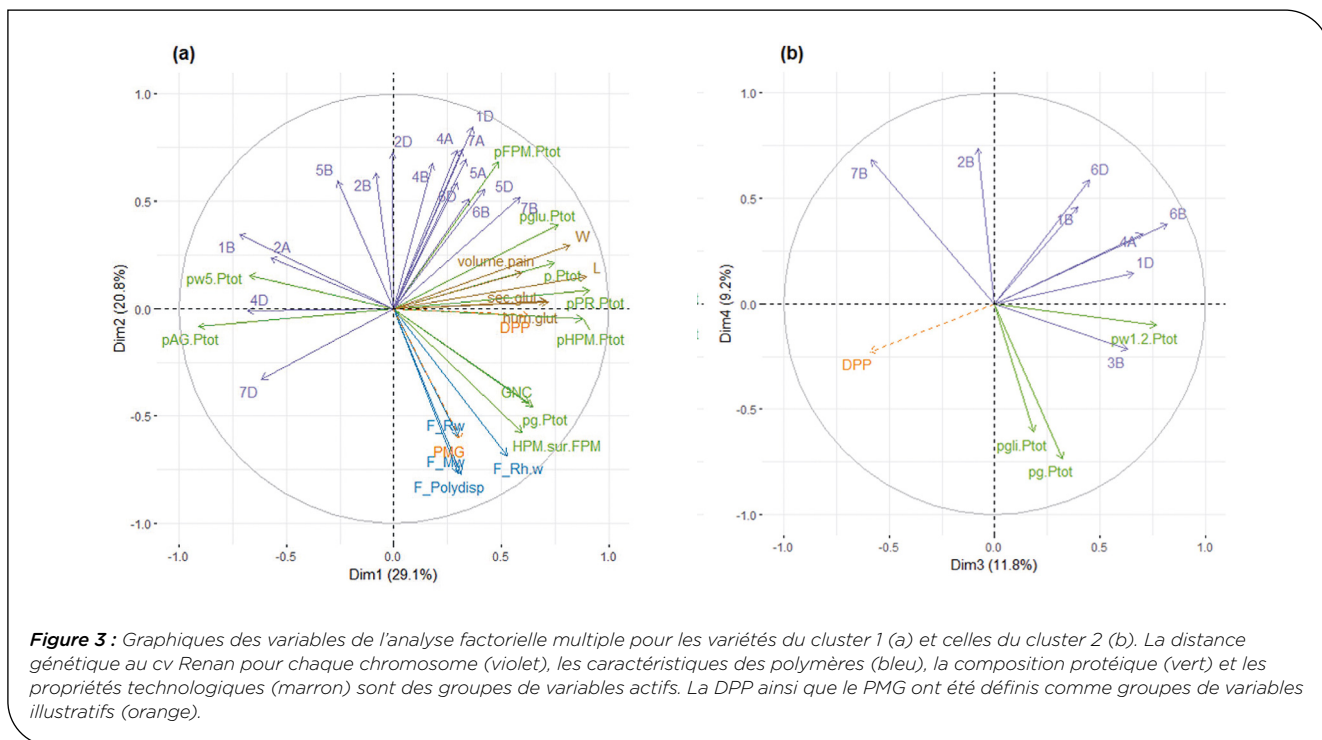


Figure 3 : Graphiques des variables de l'analyse factorielle multiple pour les variétés du cluster 1 (a) et celles du cluster 2 (b). La distance génétique au cv Renan pour chaque chromosome (violet), les caractéristiques des polymères (bleu), la composition protéique (vert) et les propriétés technologiques (marron) sont des groupes de variables actifs. La DPP ainsi que le PMG ont été définis comme groupes de variables illustratifs (orange).

Comme le montre la superposition des ellipses de confiance pour CF et EM, l'effet environnement (lieu) est bien corrigé (Figure 4). Pour les cultivars du cluster 1 (Figure 4a), W-39 et W-40 présentent la DPP la plus élevée, tandis que W-24, qui est associé à une teneur élevée en albumines-globulines (pAG.Ptot) et en ω 5-gliadines (pw5.Ptot) (Figure 3a), présente la DPP la plus faible. Toutes les variétés du cluster 2 ont été projetées ensemble, à l'exception de W-64 et de W-50 cultivée à CF (Figure 4b). W-50 cultivée à CF a la DPP la plus élevée. Ce résultat est cohérent avec la projection de W-50 cultivée à EM, qui est également caractérisée par une DPP élevée.

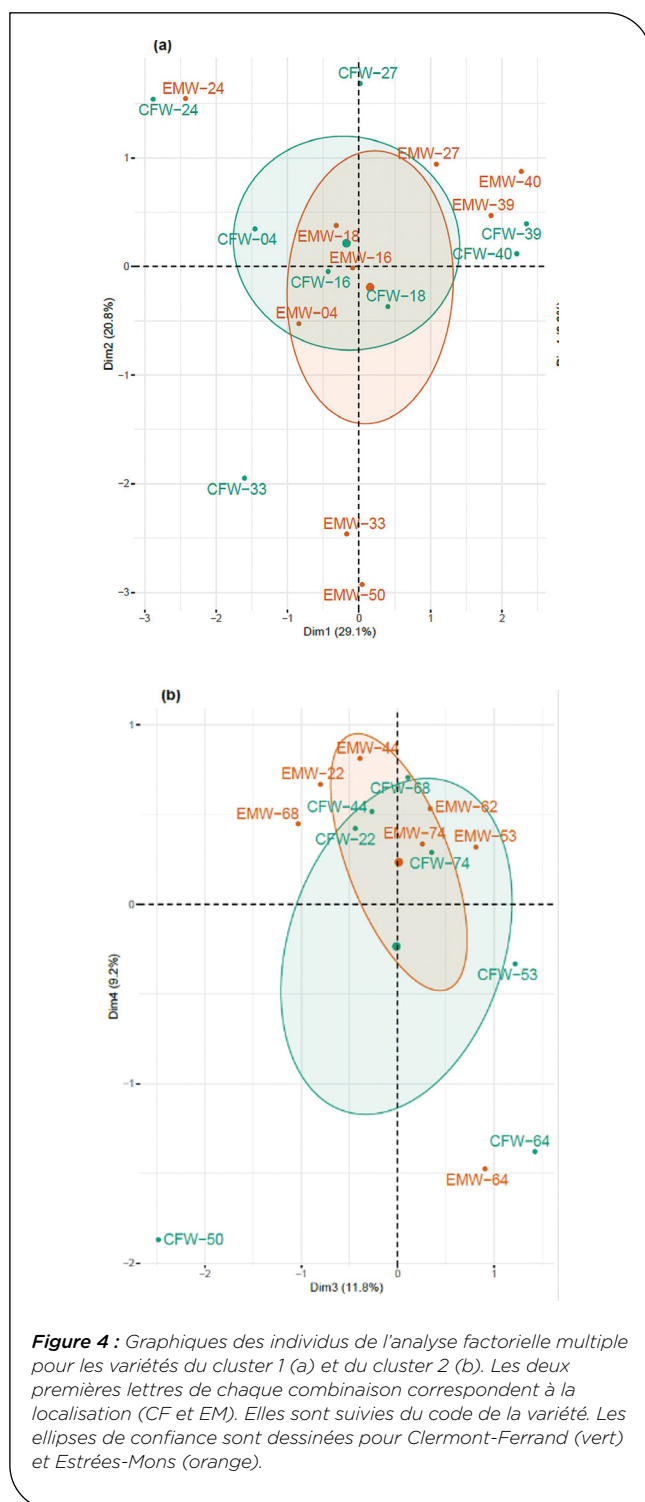


Figure 4 : Graphiques des individus de l'analyse factorielle multiple pour les variétés du cluster 1 (a) et du cluster 2 (b). Les deux premières lettres de chaque combinaison correspondent à la localisation (CF et EM). Elles sont suivies du code de la variété. Les ellipses de confiance sont dessinées pour Clermont-Ferrand (vert) et Estrées-Mons (orange).

Il est à noter que W-39, W-40 et W-50 portent l'allèle a (sous-unité 1) au locus Glu-A1, comme quatre autres accessions de notre panel (Tableau 1), et que W-24 porte l'allèle c (sous-unité nulle). Les allèles de GHM à Glu-A1 pourraient influencer la digestibilité des protéines, l'allèle a augmentant la DPP. Cet allèle est associé à une résistance de la pâte plus élevée que l'allèle Glu-A1c (Branlard *et al.*, 2001). Ceci est en accord avec le fait que la DPP est positivement associée aux caractéristiques technologiques. En outre, Branlard *et al.* (2020) ont étudié l'effet de 31 allèles de gluténines sur les caractéristiques des polymères (Mw, Rw et polydispersité) en utilisant 192 cultivars cultivés dans onze environnements. Ces auteurs ont montré que les allèles des loci *Glu1* peuvent influencer la structure du gluten avec un effet positif faible de l'allèle Glu-A1a sur Mw, Rw et la polydispersité. Cependant, dans notre étude, nous n'avons pas mis en évidence de relation entre la DPP et les caractéristiques des polymères de la farine.

Comme Gulati *et al.* (2020), nous avons mis en évidence des différences de DPP entre les cultivars de blé utilisés. Nous avons identifié des génotypes avec une DPP plus élevée, qui pourraient être utilisés par les sélectionneurs pour améliorer cette variable. De plus, la corrélation entre la DPP et les distances génétiques à Renan observées pour certains chromosomes pourraient aider à élucider le contrôle génétique de ce caractère et à trouver des marqueurs génétiques associés. L'identification de tels marqueurs serait très utile pour les sélectionneurs, rendant possible la sélection assistée par marqueurs pour la DPP, caractère que l'on ne peut phénotyper en routine.

4 Conclusion

Afin d'étudier la variabilité des variétés de blé tendre pour la protéolyse du pain au cours d'une digestion in-vitro, dix cultivars modernes et sept cultivars anciens ont été génotypés, phénotypés et leur pain digéré in-vitro. Nos résultats ont montré une variation entre les cultivars pour la protéolyse du pain après 2 h de digestion. Les variétés productives et les variétés à haute teneur en protéines se comportent différemment. A partir d'une analyse multidimensionnelle, nous avons observé que la digestibilité partielle des protéines des cultivars productifs (cultivars modernes) est positivement corrélée aux distances génétiques à Renan pour certains chromosomes ainsi qu'à plusieurs traits phénotypiques, tels que la teneur et la composition en protéines. Contrairement à notre hypothèse, les polymères de la farine ayant de grands rayons de giration et une masse moléculaire élevée ne sont pas opposés à la digestibilité partielle des protéines.

Enfin, nos données suggèrent que la sélection du blé pour améliorer la digestibilité des protéines du pain est possible et semble compatible avec la sélection pour la qualité technologique. Travailler sur les procédés de panification pourrait également contribuer à améliorer la digestibilité des protéines du pain dans la mesure où la digestibilité est positivement corrélée au volume du pain. De plus, d'autres composants de la farine, comme l'amidon, devraient également influencer la digestibilité des protéines du pain.

En nutrition humaine, la valeur des protéines dépend de leur composition en acides aminés et de leur digestibilité. L'amélioration de la digestibilité des protéines du blé pourrait réduire les réactions indésirables au gluten en évitant que des peptides à longue chaîne liés à la maladie cœliaque et aux allergies au blé n'atteignent la muqueuse intestinale. Cependant, le lien entre cette faible digestibilité des protéines et la SGNCNA reste à prouver.

En conclusion, l'amélioration de la digestibilité des protéines du blé pourrait être un objectif pour l'avenir proche de la sélection du blé, car les protéines d'origine végétale sont nécessaires pour diversifier les apports en protéines et réduire la consommation de protéines d'origine animale, contribuant ainsi à diminuer l'impact environnemental de la production de protéines.

Références bibliographiques

- Afzal, M., Pfannstiel, J., Zimmermann, J., Bischoff, S. C., Würschum, T., Longin, C. F. H.** (2020). High-resolution proteomics reveals differences in the proteome of spelt and bread wheat flour representing targets for research on wheat sensitivities. *Scientific Reports*, 10(1), 14677. <https://doi.org/10/gjsfgb>
- Blanquet-Diot, S., Denis, S., Chalancon, S., Chaira, F., Cardot, J. M., Alric, M.** (2012). Use of artificial digestive systems to investigate the biopharmaceutical factors influencing the survival of probiotic yeast during gastrointestinal transit in humans. *Pharm Res*, 29, 1444-1453. <https://doi.org/10/bmj4v>
- Bonnot, T., Bancel, E., Alvarez, D., Davanture, M., Boudet, J., Pailloux, M., Zivy, M., Ravel, C., Martre, P.** (2017). Grain subproteome responses to nitrogen and sulfur supply in diploid wheat *Triticum monococcum* ssp. *Monococcum*. *The Plant Journal*, 91(5), 894-910. <https://doi.org/10/gbqcgz>
- Bos, C., Juillet, B., Fouillet, H., Turlan, L., Daré, S., Luengo, C., N'tounda, R., Benamouzig, R., Gausserès, N., Tomé, D., Gaudichon, C.** (2005). Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 87-94. <https://doi.org/10/gmxb5n>
- Branlard, G., Dardevet, M., Saccomano, R., Lagoutte, F., Gourdon, J.** (2001). Genetic Diversity of Wheat Storage Proteins and Bread Wheat Quality. *Euphytica*, 119, 59-67. <https://doi.org/10/c24s6f>
- Branlard, G., Faye, A., Rhazi, L., Tahir, A., Lesage, V., Aussenac, T.** (2020). Genetic and Environmental Factors Associated to Glutenin Polymer Characteristics of Wheat. *Foods*, 9(5), 683. <https://doi.org/10/gjhdxb>
- Catassi, C.** (2015). Gluten Sensitivity. *Annals of Nutrition Metabolism*, 67 Suppl 2, 16-26. <https://doi.org/10/f76knf>
- Dumas, J.B.A.** (1831) *Procédes de l'analyse Organique. Annales de Chimie et de Physique (Annals of Chemistry and of Physics)*, 247, 198-213.
- Dupont, D., Alric, M., Blanquet-Diot, S., Bornhorst, G., Cueva, C., Deglaire, A., Denis, S., Ferrua, M., Havenaar, R., Lelieveld, J., Mackie, A. R., Marzorati, M., Menard, O., Minekus, M., Miralles, B., Recio, I., Abbeele, P. V. den.** (2019). Can dynamic in vitro digestion systems mimic the physiological reality? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(10), 1546-1562. <https://doi.org/10/gkzcxw>
- Dupont, F. M., Vensel, W. H., Tanaka, C. K., Hurkman, W. J., Altenbach, S. B.** (2011). Deciphering the complexities of the wheat flour proteome using quantitative two-dimensional electrophoresis, three proteases and tandem mass spectrometry. *Proteome Science*, 9(1), 10. <https://doi.org/10/fp9zc6>
- Evenson, R. E., Gollin, D.** (2003). Assessing the impact of the green revolution, 1960 to 2000. *Science (New York, N.Y.)*, 300(5620), 758-762. <https://doi.org/10/b4vm67>
- Geisslitz, S., Shewry, P., Brouns, F., America, A. H. P., Cao, G. P. I., Daly, M., D'Amico, S., De Giorgio, R., Gilissen, L., Grausgruber, H., Huang, X., Jonkers, D., Keszthelyi, D., Larré, C., Masci, S., Mills, C., Møller, M. S., Sorrells, M. E., Svensson, B., ... Weegels, P. L.** (2021). Wheat ATIs: Characteristics and Role in Human Disease. *Frontiers in Nutrition*, 8, 667370. <https://doi.org/10/gmxb4t>
- Gilani, G., Cockell, K., Sepehr, E.** (2005). Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. *Journal of AOAC International*. <https://doi.org/10/gjvg4x>
- Gulati, P., Brahma, S., Graybosch, R. A., Chen, Y., Rose, D. J.** (2020). In vitro digestibility of proteins from historical and modern wheat cultivars. In *Journal of the Science of Food and Agriculture (Vol. 100, Issue 6, pp. 2579-2584)*. WILEY. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10283>
- Johansson, E., Malik, A. H., Hussain, A., Rasheed, F., Newson, W. R., Plivelic, T., Hedenqvist, M. S., Gällstedt, M., Kuktaite, R.** (2013). Wheat Gluten Polymer Structures: The Impact of Genotype, Environment, and Processing on Their Functionality in Various Applications. *Cereal Chemistry*, 90(4), 367-376. <https://doi.org/10/f22djp>
- Joye, I.** (2019). Protein digestibility of cereal products. *Foods*, 8, 199. <https://doi.org/10.3390/foods8060199>
- Lamacchia, C., Camarca, A., Picascia, S., Di Luccia, A.** (2014). Cereal-Based Gluten-Free Food: How to Reconcile Nutritional and Technological Properties of Wheat Proteins with Safety for Celiac Disease Patients. *Nutrients*, 6, 575-590. <https://doi.org/10/gchn5v>
- Liu, S.** (2021). Studies on milling and baking quality and in-vitro protein digestibility of historical and modern wheats. University of Nebraska - Lincoln.
- Ma, F., Baik, B.-K.** (2021). Influences of grain and protein characteristics on in vitro protein digestibility of modern and ancient wheat species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(11), 4578-4584. <https://doi.org/10/gmhz9h>
- Malalgoda, M., Meinhardt, S. W., Simsek, S.** (2018). Detection and quantitation of immunogenic epitopes related to celiac disease in historical and modern hard red spring wheat cultivars. *Food Chemistry*, 264, 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.131>
- Morel, M.-H., Pincemaille, J., Chauveau, E., Louhichi, A., Violleau, F., Menut, P., Ramos, L., Banc, A.** (2020). Insight into gluten structure in a mild chaotropic solvent by asymmetrical flow field-flow fractionation (AsFFFF) and evidence of non-covalent assemblies between glutenin and ω -gliadin. *Food Hydrocolloids*, 103, 105676. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105676>

Oury, F. X., Bérard, P., Brancourt-Hulmel, M., Depatureaux, C., Doussinault, G., Galic, N., Giraud, A., Heumez, E., Lecomte, C., Pluchard, P., Rolland, B., Rousset, M., Trottet, M. (2003). Yield and grain protein concentration in bread wheat: A review and a study of multi-annual data from a French breeding program. *Journal of Genetics and Breeding*, 57(1), 59–68. Scopus.

Payne, P. I., Lawrence, G. J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications*, 11(1), 29–35.

Plessis, A. A., Grand Ravel, C. C., Bordes, J. J., Balfourier, F., Martres, P. P. (2013). Association study of wheat grain protein composition reveals that gliadin and glutenin composition are trans-regulated by different chromosome regions. *Journal of Experimental Botany*, 64(12), 3627–3644. <https://doi.org/10/f474s5>

Prandi, B., Tedeschi, T., Folloni, S., Galaverna, G., Sforza, S. (2017). Peptides from gluten digestion: A comparison between old and modern wheat varieties. *Food Research International*, 91, 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.034>

Pronin, D., Boerner, A., Scherf, K. A. (2021). Old and modern wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and their potential to elicit celiac disease. *Food Chemistry*, 339, 127952. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127952>

Ribeiro, M., Rodriguez-Quijano, M., Nunes, F. M., Carrillo, J. M., Branlard, G., Igrejas, G. (2016). New insights into wheat toxicity: Breeding did not seem to contribute to a prevalence of potential celiac disease's immunostimulatory epitopes. *Food Chemistry*, 213, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.043>

Rieder, A., Kristian Afseth, N., Böcker, U., Halvor Knutsen, S., Kirkhus, B., Mæhre, H. K., Ballance, S., Gizachew Wubshet, S. (2021). Improved estimation of in vitro protein digestibility of different foods using size exclusion chromatography. *Food Chemistry*, 129830. <https://doi.org/10/gjsr3j>

Sapone, A., Bai, J. C., Ciacci, C., Dolinsek, J., Green, P. H., Hadjivassiliou, M., Kaukinen, K., Rostami, K., Sanders, D.

S., Schumann, M., Ullrich, R., Villalta, D., Volta, U., Catassi, C., Fasano, A. (2012). Spectrum of gluten-related disorders: Consensus on new nomenclature and classification. *BMC Medicine*, 10(1), 13. <https://doi.org/10/gb33h2>

Sokal, R.R. and Michener, C.D. (1958) *A Statistical Methods for Evaluating Relationships*. University of Kansas Science Bulletin, 38, 1409-1448.

Scherf, K. A., Koehler, P., Wieser, H. (2016). Gluten and wheat sensitivities - An overview. *Journal of Cereal Science*, 67, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.07.008>

Seilmeier, W., Belitz, H.-D., Wieser, H. (1991). Separation and quantitative determination of high-molecular-weight subunits of glutenin from different wheat varieties and genetic variants of the variety Sicco. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung*, 192(2), 124–129. <https://doi.org/10/b3p8fb>

Shewry, P., Hey, S. (2015). The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, 4. <https://doi.org/10.1002/fes3.64>

Shewry, P. R. (2018). Do ancient types of wheat have health benefits compared with modern bread wheat? *Journal of Cereal Science*, 79, 469–476. <https://doi.org/10/gc5c4g>

Van den Broeck, H. C., de Jong, H. C., Salentijn, E. M. J., Dekking, L., Bosch, D., Hamer, R. J., Gilissen, L. J. W. J., van der Meer, I. M., Smulders, M. J. M. (2010). Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: Wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), 1527–1539. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1408-4>

Yu, Z., She, M., Zheng, T., Diepeveen, D., Islam, S., Zhao, Y., Zhang, Y., Tang, G., Zhang, Y., Zhang, J., Blanchard, C. L., Ma, W. (2021). Impact and mechanism of sulphur-deficiency on modern wheat farming nitrogen-related sustainability and gliadin content. *Communications Biology*, 4(1), 1–16. <https://doi.org/10/gmgbmq>

Zevallos, V. F., Raker, V., Tenzer, S., Jimenez-Calvente, C., Ashfaq-Khan, M., Rüssel, N., Pickert, G., Schild, H., Steinbrink, K., Schuppan, D. (2017). Nutritional Wheat Amylase-Trypsin Inhibitors Promote Intestinal Inflammation via Activation of Myeloid Cells. *Gastroenterology*, 152(5), 1100–1113.e12. <https://doi.org/10/f9zgw9>

GlutNsafe : « Vers la sélection de variétés de blés au gluten plus digestible ? »

E Bancel¹, M Lavoignat^{1,2}, M Alric³, S Bagnon⁴, M Benigna⁴, S Denis³, A Chassin¹, A Faye¹, M Hebraud³, E Heumez⁵, PY Dymarski⁶, L Halupka⁶, G Pages⁷, C. Chambon⁷, T. Sayd⁷, S Perrochon¹, MF Samson⁸, L Rhazi⁹, MC Leroux¹⁰, B Valluis¹⁰, P Girardeau¹¹, S Denery¹², C Larré¹², C Brossard¹², C Ravel^{1*}

1- INRAE- UCA UMR GDEC ; 2-AgroParisTech ; 3-INRAE- UCA ; UMR MEDIS ; 4- Qualtech ; 5- UE GCIE, Estrées-Mons ; 6- CereLab ; 7- INRAE UR QuaPA ; 8- Université de Montpellier-SupAgro-INRAECIRAD UMR IATE ; 9- UniLaSalle ; 10- ANMF ; 11- Secobra ; 12-INRAE-BIA ; * email address: catherine.ravel@inra.fr

Le blé est un **contributeur** majeur à l'alimentation humaine grâce à divers produits transformés, très consommés. **Les transformations sont possibles grâce au réseau de gluten.**

Le **gluten** est un réseau constitué par les protéines de réserve du grain de blé, les **gliadines** et les **gluténines**, qui se forme après pétrissage de farine et d'eau.



Le **gluten** confère à la pâte des **propriétés de visco-élasticité** uniques qui rendent possible sa transformation



Mais le gluten peut entraîner :
 - Allergie (0,5-1% de la population),
 - Maladie cœliaque (0,5-1,5%),
 - Sensibilité non cœliaque au gluten (3%)

MATERIEL ET METHODES : De la fourche à l'assiette

Le panel blé dur (BD)

25 lignées cultivées
 1) à Clermont-Fd (CF)
 2) à Montpellier (Mp)

Phénotypage

- Land races
- Variétés anciennes (1850 – 1960)
- Ressources génétiques
- Variétés modernes (1850 – 1960)
- Blé poulard (*Triticum turgidum*)

Le panel blé tendre (BT)

75 lignées cultivées
 1) à Clermont-Fd (CF)
 2) à Estrées Mons (EM)

Pour chaque lignée :
Sur grain ou farine
 ✓ Teneur en protéines (CNS), dureté, et composition protéique (HPLC)
 ✓ Polymères : masse, rayon, polydispersité et conformation pour la farine (A4E, Asymmetrical Flow Field Flow Fractionation). Mesure d'agrégation des protéines (SE-HPLC) pour le BD.

Sur pâte ou gluten
 ✓ Paramètres rhéologiques (tenacité, extensibilité, force et élasticité (alvéarophe Chopin))
 ✓ Gluten index, gluten sec et gluten humide (glutomatic)

Transformation

Des lignées représentatives de la variabilité phénotypique observée ont été choisies sur l'ensemble des données et transformées selon un **procédé standard**

Panification de 17 lignées de BT (33 pains)
 (norme BIPEA, fermentation levure)

Pastification de 6 BD (10 lots de spaghettis)
 (procédé standard)

Digestion In vitro

Pour estimer la **digestibilité** des protéines du pain ou des spaghettis : calcul de la **digestibilité partielle des protéines (DPP)** à partir du **bilan azoté** après 2h de digestion *in vitro*

DPP = $\frac{N \text{ digéré_absorbé}}{N \text{ tot_récupéré}}$

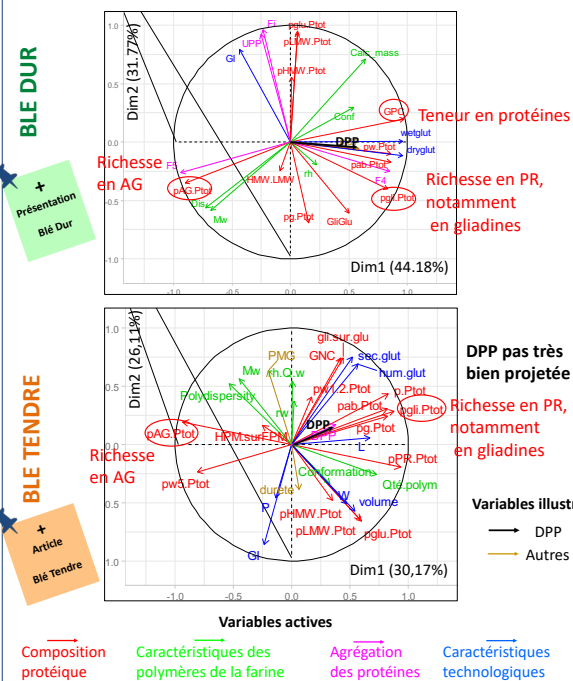
N tot_récupéré = N En cours de digestion + N Digéré absorbé + N fuites coliques

PEUT-ON EXPLIQUER LA DIGESTIBILITE PARTIELLE DES PROTEINES A PARTIR DES VARIABLES MESUREES?

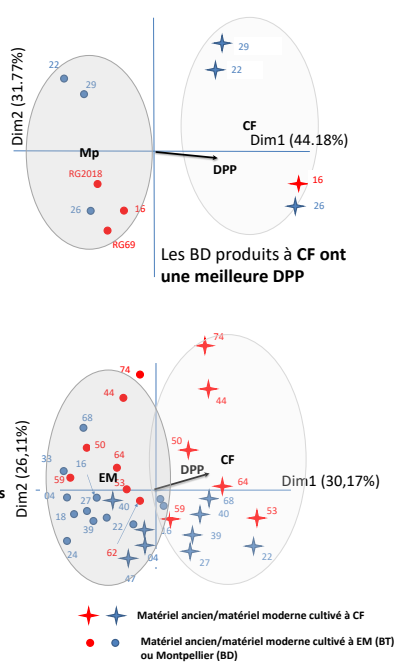
Etude des relations entre données phénotypiques et digestibilité :
 Analyse Factorielle Multiple sur l'ensemble des données réduites par espèce

PRINCIPAUX RESULTATS

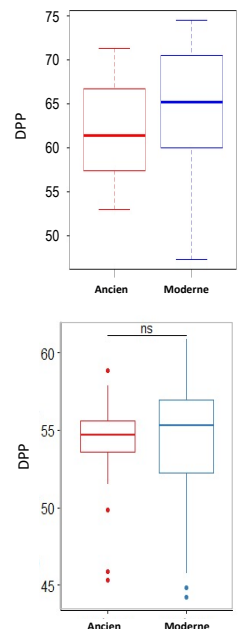
1. Des variables phénotypiques liées à la DPP



2. Une structuration par lieu



3. La DPP ne dépend pas du groupe d'âge des cultivars



PARTENARIAT



CONCLUSION

Ces résultats montrent une **variation** entre les variétés pour la **digestibilité partielle des protéines du pain et des pâtes**, élaborés avec un procédé standard, après 2h de digestion (DPP). La DPP dépend du lieu de culture qui joue sur la composition protéique. La mise en relation des données phénotypiques et de la DPP montre chez les deux espèces qu'une **forte proportion d'albumines-globulines (AG) dans les protéines totales conduit à une moins bonne DPP à 2h de digestion** contrairement à une forte proportion de protéines de réserve (dans les protéines totales). Chez le BT, il n'a pas été mis en évidence de relation négative entre protéolyse et caractéristiques des polymères protéiques.

Attention aux 2 limites de l'étude : la projection de la DPP dans le cercle des corrélations chez le BT n'est pas bonne. On dispose de peu de lignées chez le BD.

