

Laboratoire de Biotechnologie & de Physiologie Végétale

INRAT

**Chef du laboratoire: Dr. M'barek BEN NACEUR E-
mail: bennaceur.mbarek@iresa.agrinet.tn**

Objectifs du laboratoire

Espèce d'intérêt
pour le pays

Adaptation des végétaux aux stress
abiotiques: Évaluation et caractérisation
agrophysiologiques, biochimique et
moléculaire en relation avec les
contraintes de l'environnement

Agrume
Céréales (blé, orge)
Pomme de terre

Utilisation des outils biotechnologiques
pour l'amélioration de la pomme de
terre.

Utilisation des outils biotechnologiques
pour l'amélioration de quelques espèces
d'Agrumes (obtention de variétés
aspermes)

- Formation et encadrement en relation avec les thèmes traités
- Transfert de technologie vers les agriculteurs

Problématique Générale

La population tunisienne augmente annuellement d'environ 0,99% (www.indexmundi.com/fr/Tunisie/croissance_démographique). Ce taux de croissance permet d'atteindre 16 millions d'habitants en 2056. Compte tenu des besoins annuels actuels en céréales (environ 21 millions de quintaux), il est impératif d'augmenter la production céréalière d'approximativement 65 % pour les cinquante années à venir pour satisfaire les besoins de la population en matière de céréales.

L'augmentation de la production (céréale) nécessite l'extension des terres emblavées ainsi que l'amélioration des techniques de production dont l'irrigation qui est très souvent utilisée pour sauver les cultures. Cependant, les ressources en eaux destinées à l'irrigation en Tunisie sont limitées et de qualité médiocre puisque 30 % de ces ressources sont considérés comme salines (BOUTITI, 1994).

Dans ce contexte, deux stratégies complémentaires peuvent être mises en œuvre pour limiter les effets dépressifs du sel sur les rendements des cultures. Il s'agit d'une part, d'appliquer des techniques culturales permettant de réduire la salinité des sols (BENNES, 2003) et d'autre part, sélectionner les variétés ou les espèces capables de minimiser les effets dépressifs de la salinité sur les rendements.

La sélection du matériel végétal tolérant au sel est tributaire d'une connaissance approfondie des mécanismes physiologiques, biochimiques et génétiques de tolérance à la salinité.



Objectifs globaux du programme de recherche sur les céréales

- l'évaluation et l'identification des variétés les plus tolérantes aux deux types de stress (sécheresse et salinité) et qui pourraient être cultivées dans les zones relativement sèches ou dans les zones où nous ne disposons que de l'eau saumâtre;

Ω- la mise en évidence des gènes impliqués dans la tolérance aux stress, leur élution, leur séquençage et leur clonage dans d'autres variétés pour leur conférer une tolérance satisfaisante au stress abiotiques.

- la détection de QTL stables et associés à la tolérance à la sécheresse, ce qui nous permettra de participer, avec d'autres laboratoires, à la saturation en QTL de la carte génétique du blé dur.

Ω- l'établissement des empreintes génétiques et des distances génétiques entre les variétés céréalières dont dispose le laboratoire de génétique des céréales de l'INRAT.

ETAT D'AVANCEMENT DU PROGRAMME

1. Stress salin

Méthodologie et stratégie de réalisation.

Prospection effectuée dans différents étages bioclimatiques de la Tunisie
Collecte d'un certain nombre d'accessions d'orge.

Ces accessions ont été épurées sur la base de certains critères agronomiques et sont, par la suite, soumises à l'évaluation vis-à-vis du stress salin, en adoptant une approche physiologique, biochimique et moléculaire.

Au stade germination, les essais ont porté sur le taux de germination en conditions de stress salin, l'accroissement de la coléoptile, de la radicule et de leur rapport.

Ω Au niveau de la plante entière, l'évaluation de la tolérance au sel a touché le système racinaire, les paramètres physiologiques (teneur en chlorophylle) et les paramètres de production (nombre de grains/épi, poids moyen des épis et rendement en grains ainsi que les corrélations multiples entre les différents paramètres).

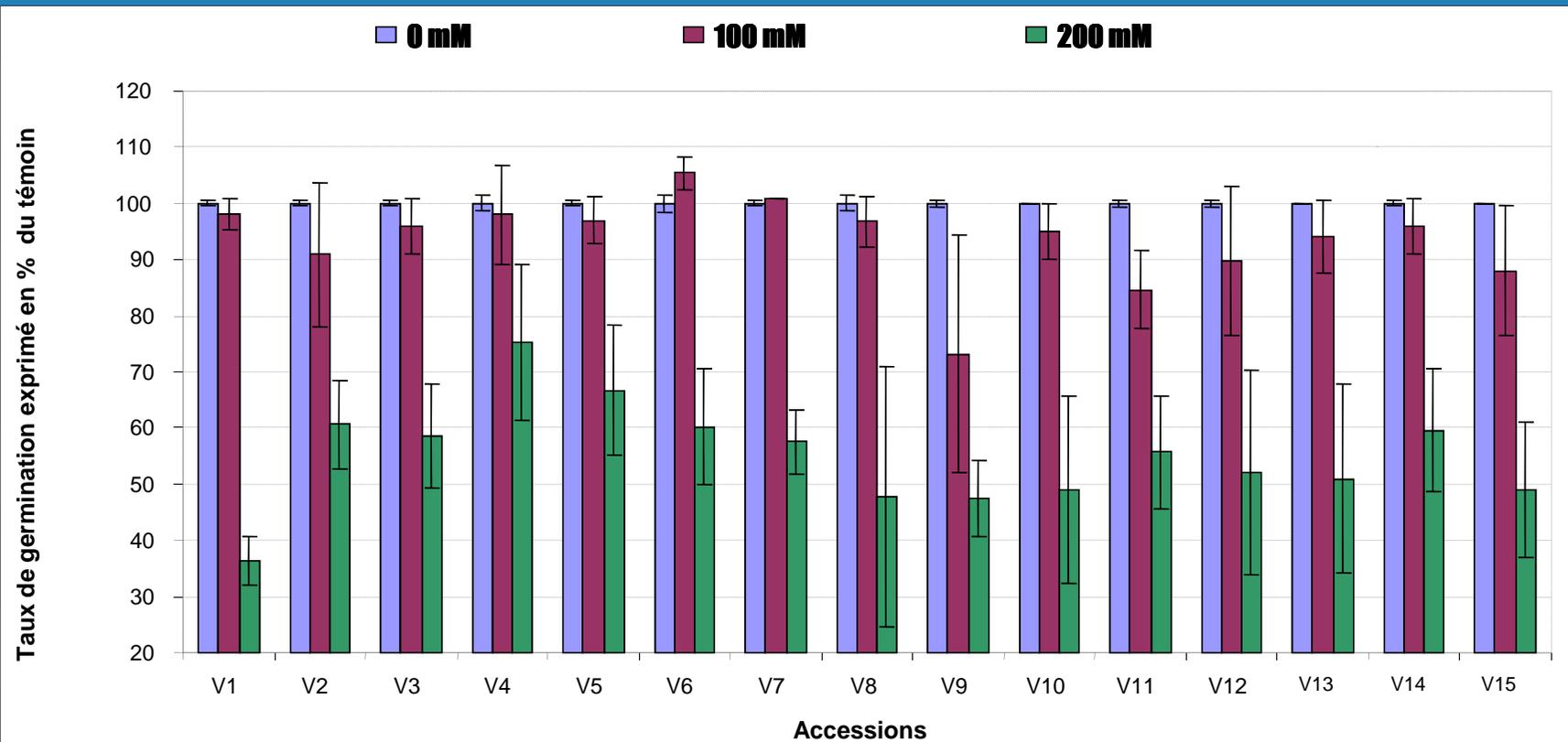
Au niveau moléculaire, les essais avaient pour objectif de déterminer le polymorphisme inter accessions et identifier les gènes candidats à la tolérance au stress salin. Ceci est obtenu par application de la RAPD, la SSR et la RT-PCR.

L'évaluation du patrimoine génétique de l'INRAT consiste en l'application de la RAPD et les microsatellites sur les ADN des différentes variétés de blé et d'orge.

Résultats obtenus

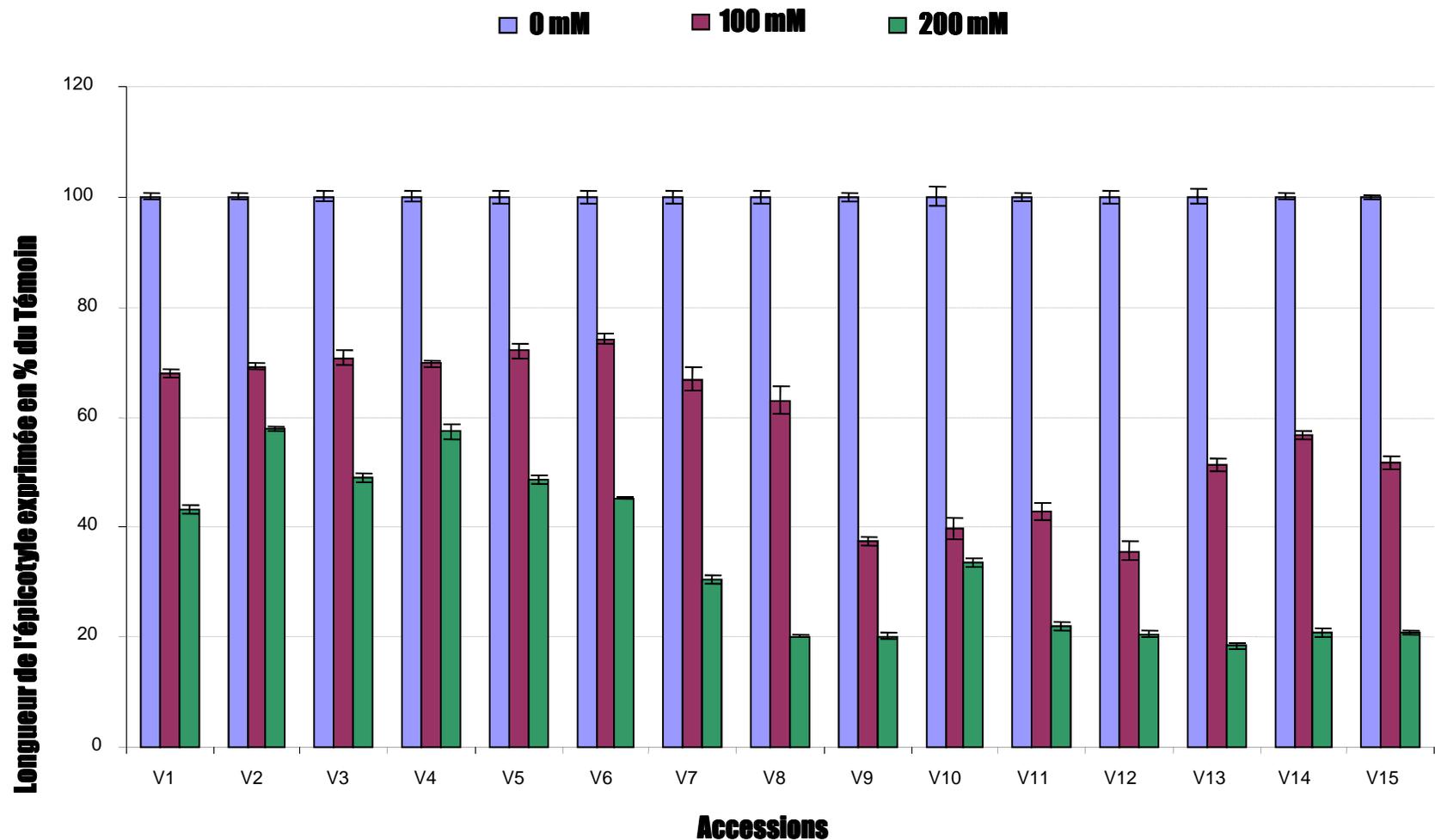
1. Effet sur le taux de germination

Bien qu'il ne reproduise pas intégralement le comportement des plantes au champ, le taux de germination, en conditions de stress salin, donne toujours une tendance plus ou moins précise du comportement des variétés étudiées.



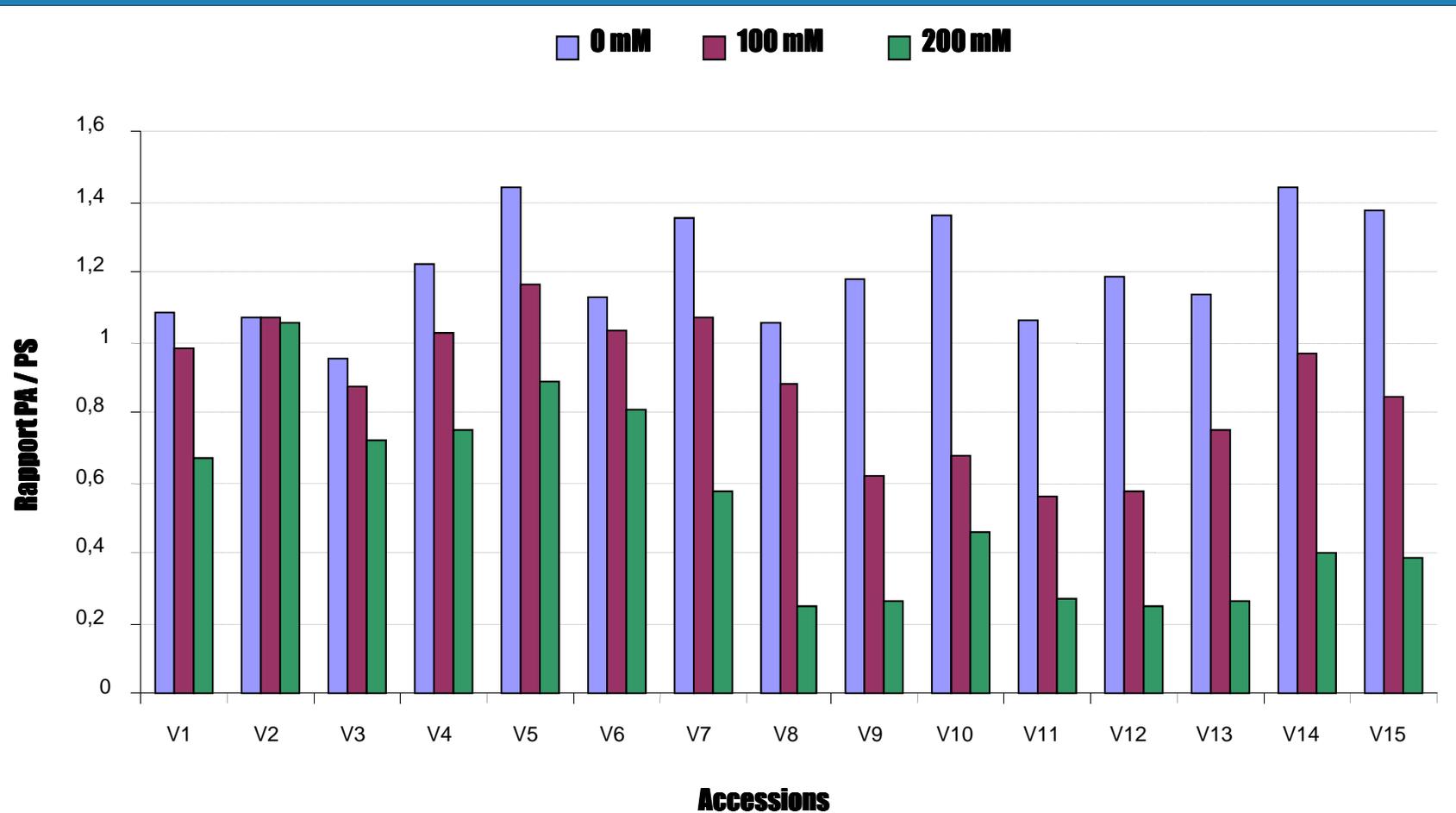
2. Effet sur la longueur de la partie aérienne

Le taux de réduction de la longueur de l'épicotyle par rapport au témoin varie de 20 à 60 %. Cependant certaines accessions et même sous stress sévère, développent des longueurs supérieures ou égales à 50 % du témoin et dépassent même celle des autres accessions sous stress modéré (figure 2).



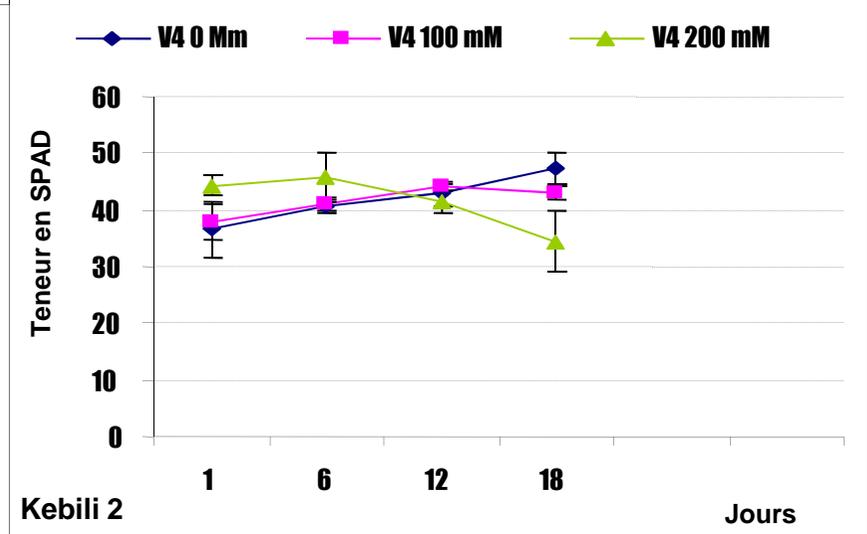
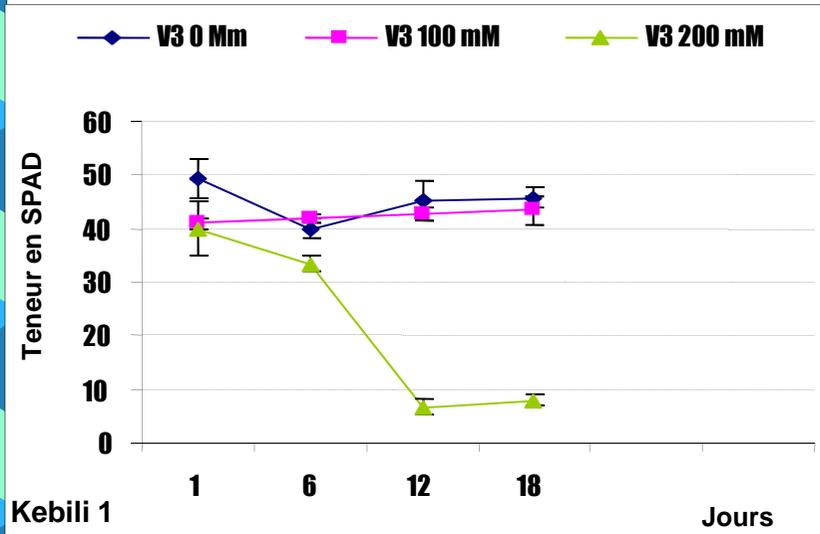
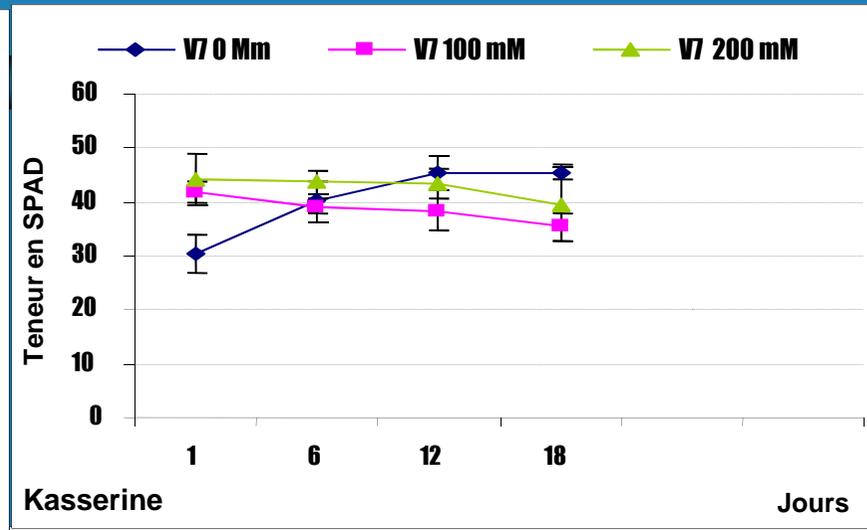
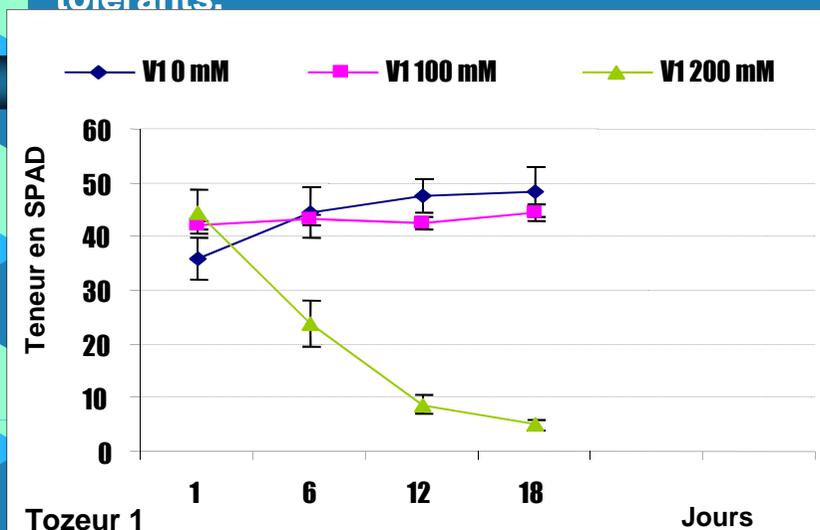
3. Effet du sel sur le rapport (PA/PR)

Plus le rapport (PA/PR) est proche de 1 (équilibré) plus l'accession ou la variété est tolérante au sel. Les accessions originaires du Sud répondent mieux à ce critère d'évaluation que celles originaires du Nord du pays.



Effet de l'irrigation à l'eau saline sur de la teneur en chlorophylle mesuré par SPAD- mètre

Un exemple d'identification des génotypes tolérants et sensibles au sel. Dégradation de la chlorophylle chez les sensibles et maintien de la teneur de cette substance chez les tolérants.



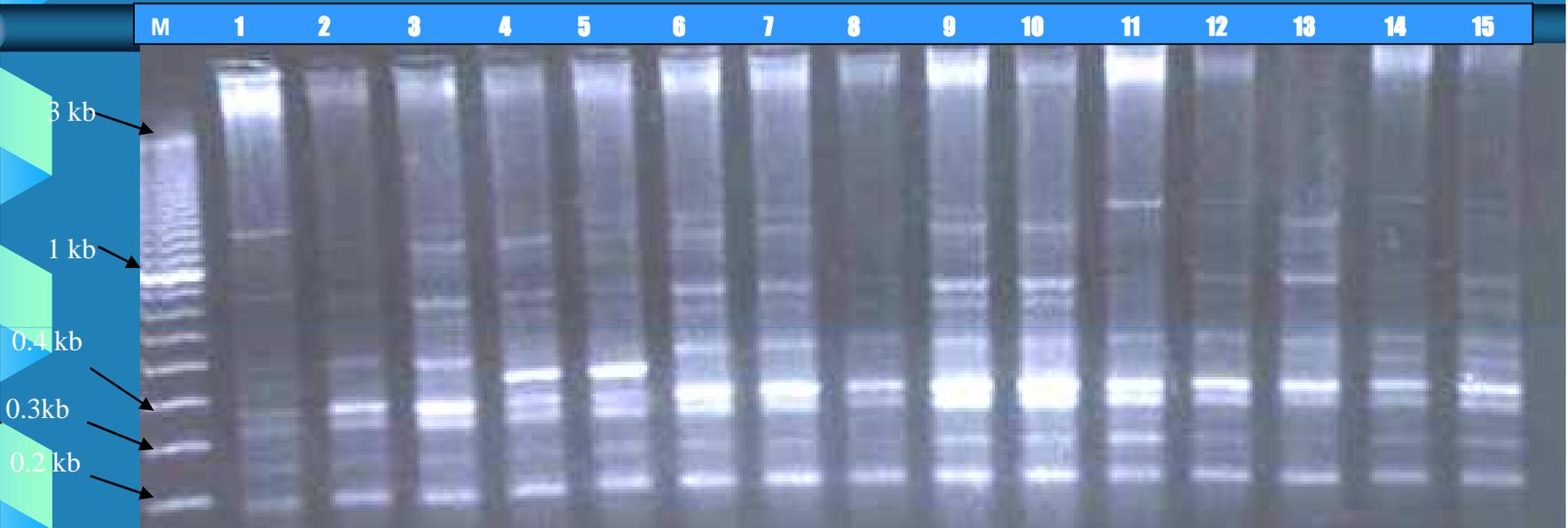
Taux de réduction du nombre de grains/épi

Certaines accessions montrent une limite de tolérance au sel et sont performantes uniquement lorsque la salinité est modérée (6 g/l). Cependant cette tolérance se brise dès que la salinité devient excessive (12 g/l) et ne reste que 3 accessions tolérantes sur les 15 accessions testées.

Dose	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15
100mM	10,2	19,3	28,1	23,5	28,7	15,2	24,7	50	54,6	20,2	41,9	39,6	41	27,5	28,6
200mM	74,4	21,2	79,2	34,6	44,1	26,4	44,8	57,1	73,3	64,7	37,8	41,3	67,5	47,5	68,6

Analyse du polymorphisme entre les accessions étudiées, par la RAPD

M: marqueurs de poids moléculaire (EZ Load 100 pb PCR Molecular Ruler en panel A et 100 pb Molecular Ruler en panel B). Les pistes numérotées correspondent aux accessions étudiées: 1= Tozeur1, 2 = Tozeur2, 3 = Kebilli1, 4 = Kebilli2, 5 = Kebilli3, 6 = Sidi Bouzid, 7 = Kasserine, 8 = Jendouba1, 9 = Jendouba2, 10 = Martin, 11 = Kalaa, 12 = Klibia1, 13 = Klibia2, 14 = Rihane, 15 = Manel.



- L'analyse du polymorphisme montre que les coefficients de similarités génétiques varient de 0,4782 à 0,8139 avec une moyenne de 0,6460. Cet intervalle traduit une certaine divergence génétique et montre que les accessions étudiées constituent des groupes plus ou moins séparés.

- Par ailleurs, les similarités les plus élevées sont observées entre les combinaisons variétales suivantes (kasserine – Sidi bouzid: 0,8139) et (Tozeur 2 – Kebilli 1: 0,7835). Par contre, les coefficients les plus faibles sont obtenus avec les combinaisons (Klibia 1 – Kebilli 3 : 0,4782) et (Kalaa - Manel: 0,4800) .

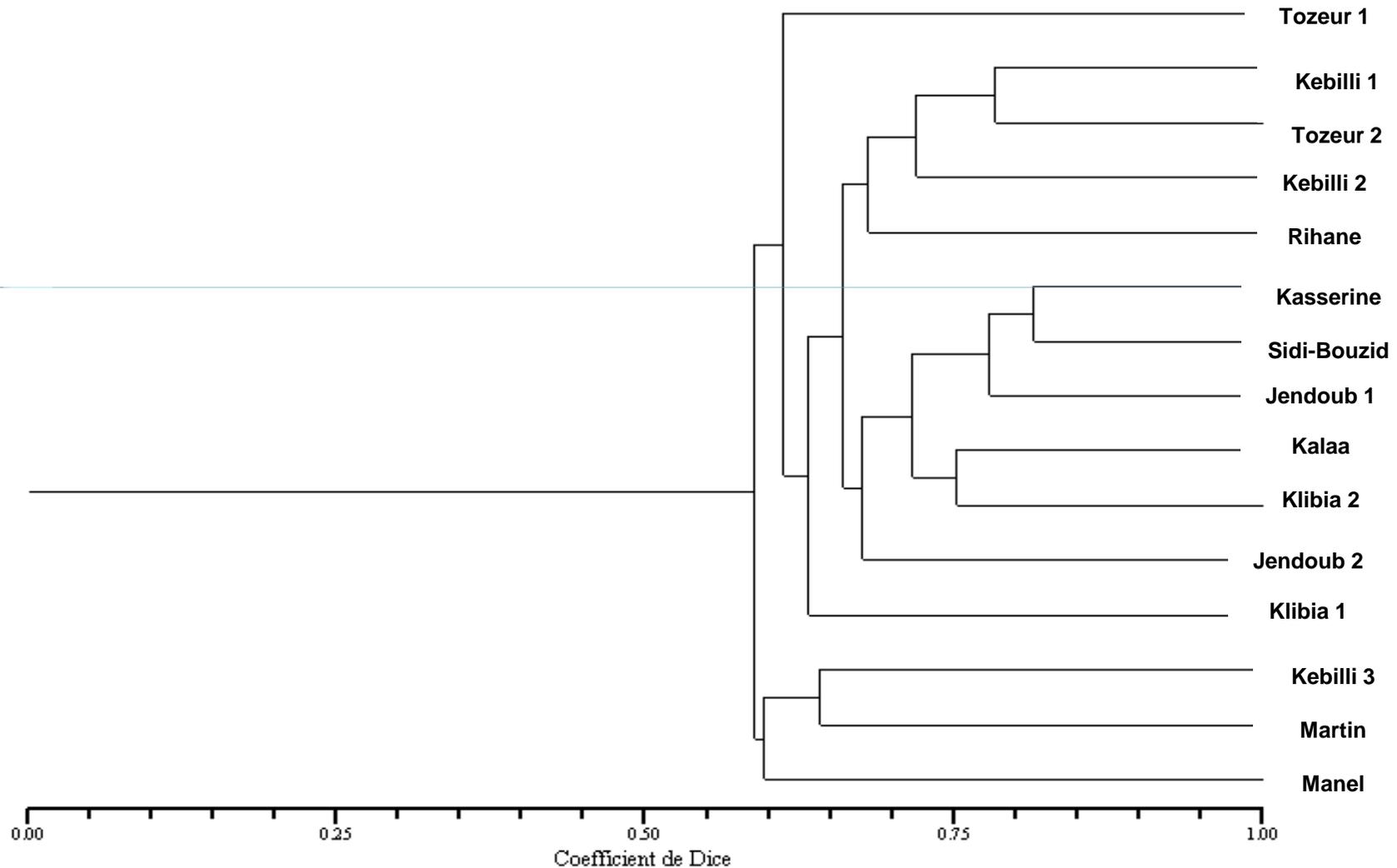
Pour les 15 accessions étudiées, 5 groupes: A, B, C, D et E ont été distingués à partir d'un seuil de similarité de 60 %.

Le groupe A contient les trois accessions Kebilli 3, Martin et Manel.

Les groupes B et C comportent uniquement et respectivement les accessions Tozeur 1 et Klibia 1.

Le groupe D se divise en 3 sous groupes: Da (Tozeur 2 et Kebilli 1), Db (Kebilli 2) et Dc (Rihane),.

Le groupe E se compose de 6 accessions (67 %). Il se divise à son tour en 3 sous groupes: Ea (Kasserine, Sidi bouzid et Jendouba 1) Eb (Kalaa et Klibia 2) et Ec (Jendouba 2).



Analyse du polymorphisme chez l'orge locale et améliorée, par les marqueurs SSR (Convention avec le Laboratoire de grande culture de l'INRAT)



Kerkena

Djerba

Kairouan

Gabès

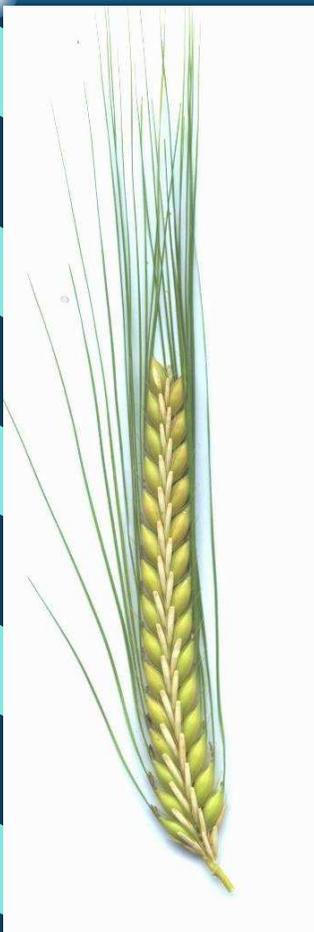
Jendouba

Rihane

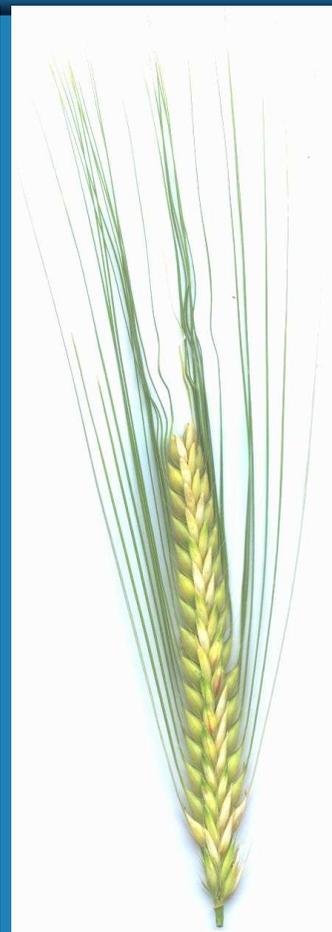
Martin

Kebilli 1

Analyse du polymorphisme chez l'orge locale et améliorée, par les marqueurs SSR (Suite)



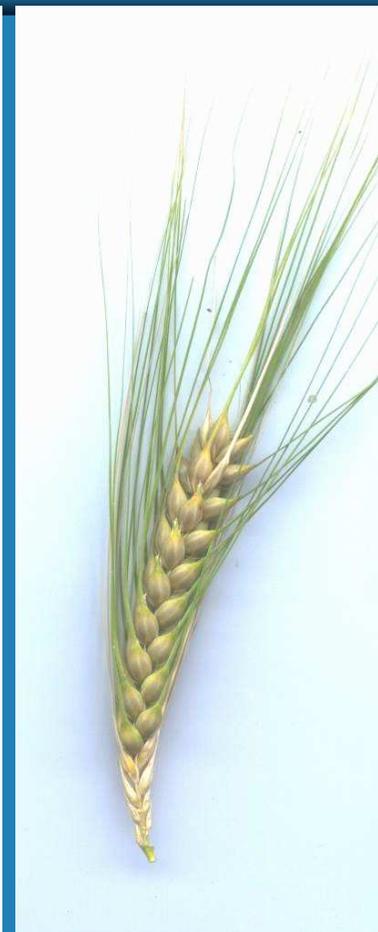
Roho



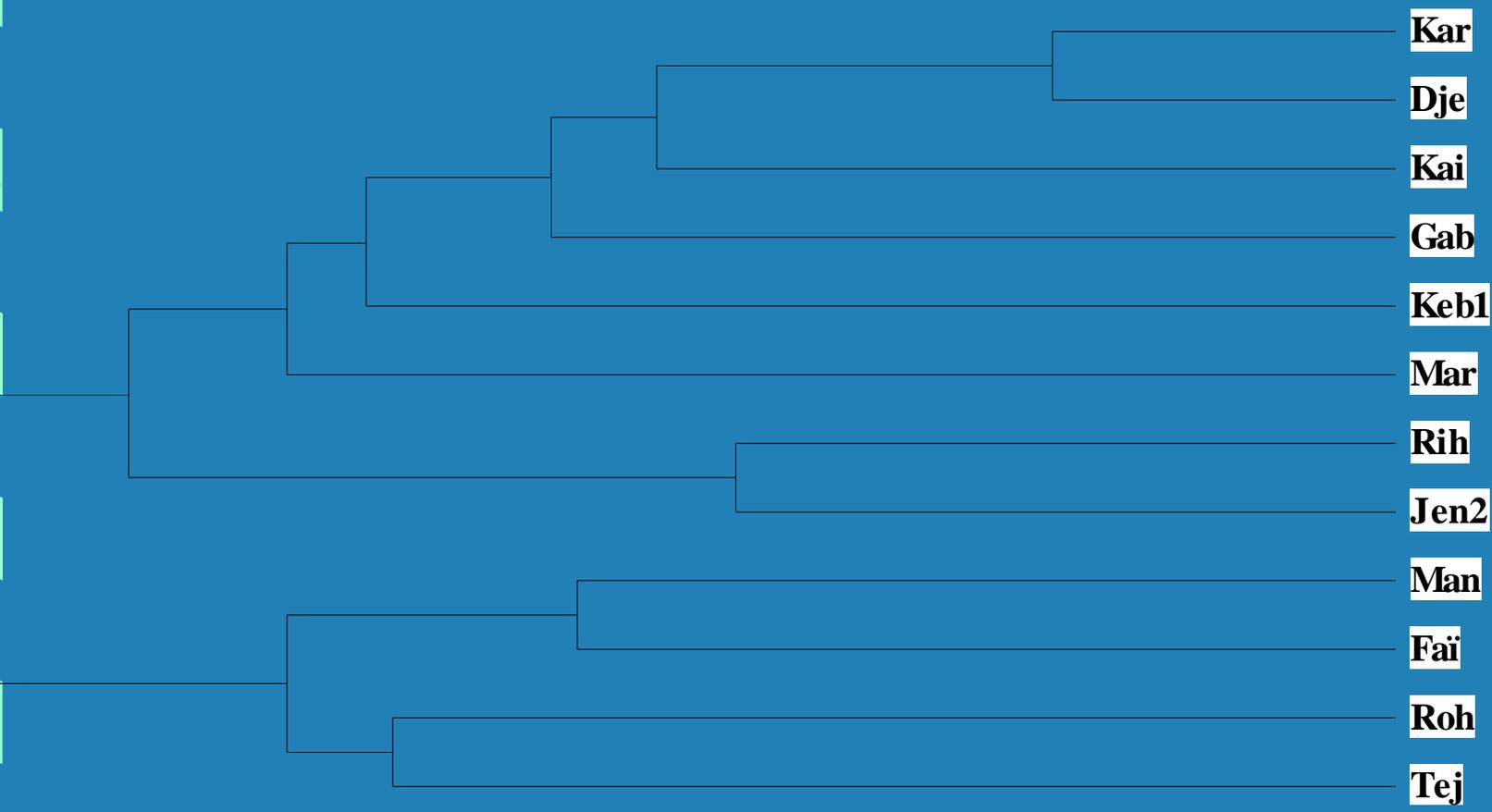
Tej



Faiz



Manel



Kar
Dje
Kai
Gab
Keb1
Mar
Rih
Jen2
Man
Fai
Roh
Tej

Analyse du polymorphisme chez le blé, par la RAPD

(Convention avec le Laboratoire de grande culture de l'INRAT)

Variété	Croisement/ Pedigree	Origine	Date d'inscription
Badri (ancienne)	Zenati-bouteille x Mahmoudi-Mnari	INRAT (Tunisie)	1969
INRAT69 (ancienne)	Kyperounda x Mahmoudi 981	INRAT (Tunisie)	1969
Maghrebi (ancienne)	GZ-61130	CIMMYT (Mexique)	1972
Karim (ancienne)	21563- AA "S"xFg "s"	INRAT (Tunisie)	1973
Razzek (ancienne)	Karim x (DM x 69-331)	INRAT (Tunisie)	1976
Ben Béchir (ancienne)	Galo 469/3/JO "S"x 61-130/LDS	CIMMYT (Mexique)	1978
Khiar (nouvelle)	chen "S"x Altar 84 CD 57005-1Y- 2B-5Y-1M-0Y	CIMMYT (Mexique)	1992
Oum Rabia (nouvelle)	Jory (Mexique)x Haurani (Syrie)	ICARDA (Syrie)	1996
Nasr (nouvelle)	---	INRAT (Tunisie)	Nouvellement inscrite
Maali (nouvelle)	---	INRAT (Tunisie)	Nouvellement inscrite

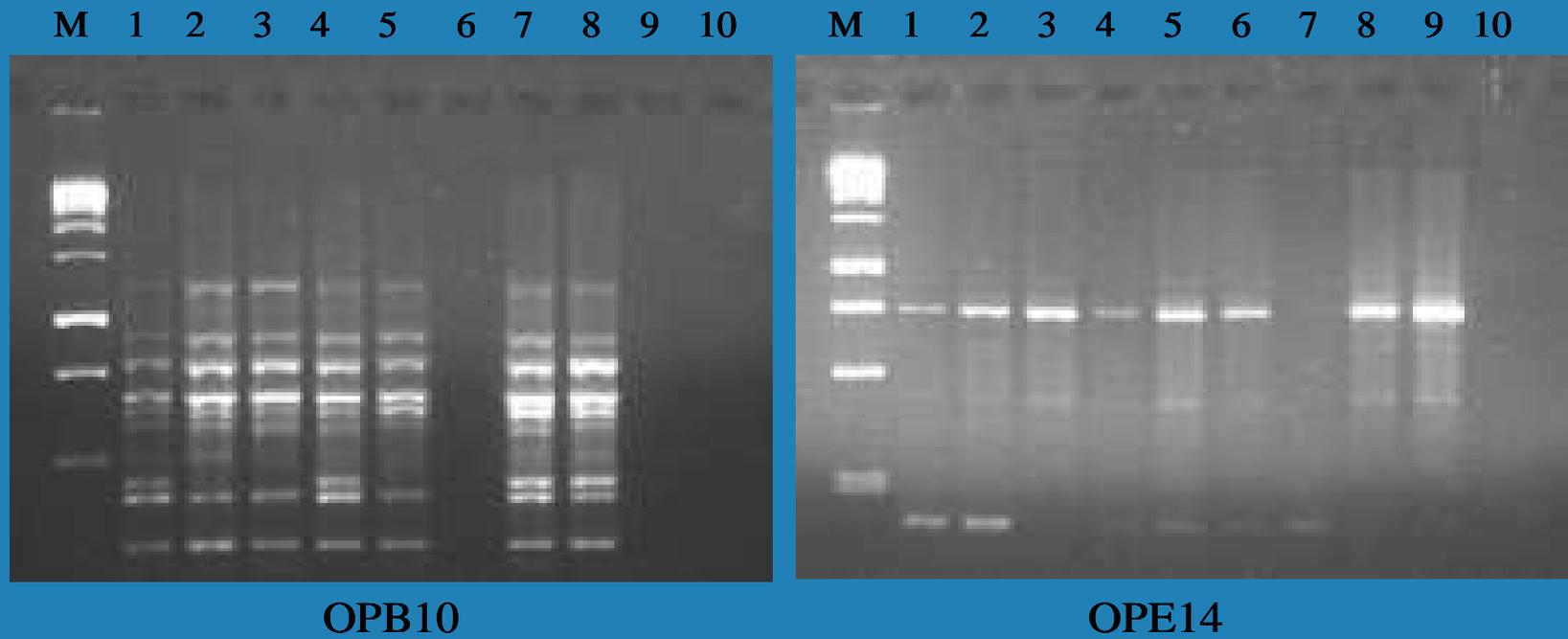
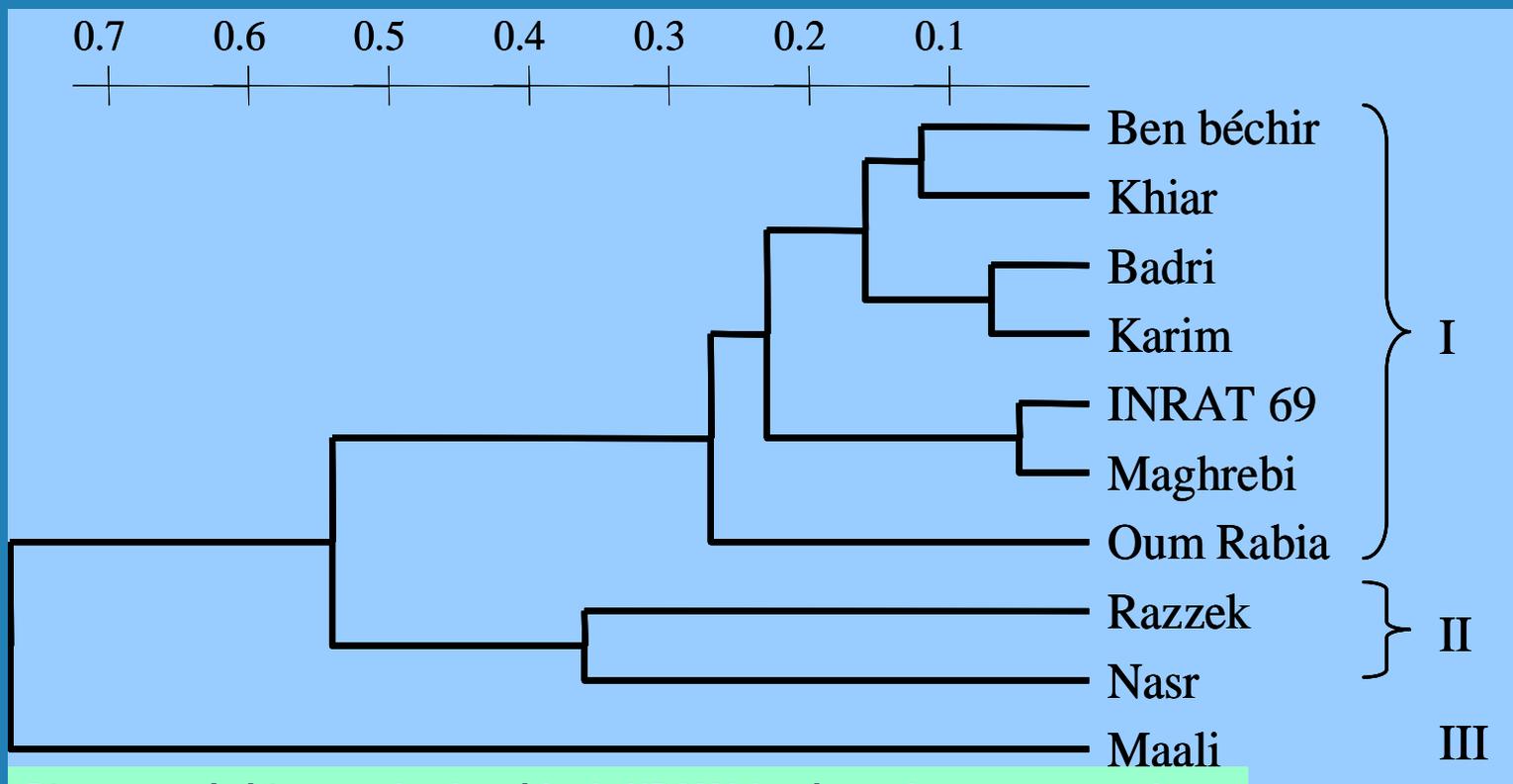


Figure1 : Polymorphisme génétique entre les variétés de blé dur révélé par les amorces OPB10 et OPE14

% de dissimilarité



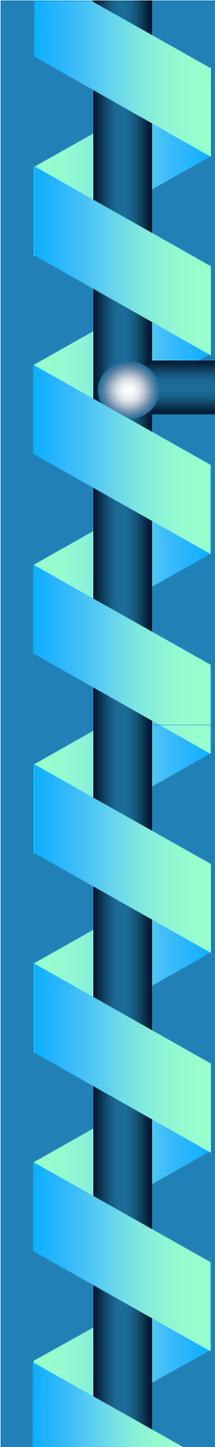
Distances génétiques selon la méthode UPGMA basée sur le pourcentage de dissimilarité de Nei et Li (1979)

Participation du Laboratoire à d'autres activités



Les résultats obtenus sont transférés aux agriculteurs via plusieurs voies: journées d'informations organisées par les collègues chercheurs dans les divers CRDA.

- les écrits dans le magazine de l'agriculture
- les réunions avec la profession et/ou avec l'AVFA
- les séminaires notamment ceux organisés annuellement par l'IRESA.



Mais aussi:

- les workshop et les TP dispensés aux étudiants sur des thèmes traités par le Laboratoire
- l'accueil des étudiants stagiaires durant la période de l'été
- les écrits sous forme de publications scientifiques nationales et internationales.