

Ministère de l'Agriculture et des Ressources Hydrauliques

Institution de la Recherche et de l'Enseignement
Supérieur Agricole



**LABORATOIRE DE GENETIQUE
ET
AMELIORATION DES PLANTES**

Institut National Agronomique de Tunisie

Laboratoire de Génétique et Amélioration des Plantes
Département : Agronomie et Biotechnologie végétale

Enseignants Chercheurs permanents

DAALOUL Abderrazak

HARRABI Moncef

AMARA Hajer

HAMZA Sonia

TRIFA Youssef

HAMADA Walid

TORKI Moez

CHERIF Mejda

BESBES Raja

SLAMA Olfa

Professeur INAT

Professeur INAT / Chef du laboratoire

Maître de Conférences INAT

Maître de Conférences INAT

Maître-Assistant INAT (habilité)

Maître-Assistant INAT (habilité)

Maître-Assistant INAT

Maître-Assistante/ Doctorante INAT

Ingénieur Principal INAT

PES Détachée / Doctorante INAT/FST

14 Thèses de Doctorat

16 Mastères soutenus depuis 2001

8 Mastères en cours

5 à 6 PFE / Année Universitaire



Objectifs

- Mise en œuvre d'outils biotechnologiques pour l'amélioration des céréales
- Caractérisation, évaluation et sélection du germoplasme pour des caractères de portée agronomique

THEME 1

APPROCHES D'AMÉLIORATION DES CÉRÉALES

Action 1

Analyse de la diversité génétique chez le blé et l'orge

Analyse de la diversité génétique chez le blé et l'orge

Germoplasme local et amélioré
Germoplasme introduit

Caractérisation agromorphologique

Caractérisation phénologique

Caractérisation biochimique

Caractérisation moléculaire

Caractérisation agromorphologique du germoplasme local de Blé Dur

132 génotypes BD/250 Collection Nationale

Agili (23 accessions)
Azizi (7 accessions)
Arbi (2 accessions)
Aoudj (2 accessions)
Bidi (6 accessions)
Biskri (10 accessions)
Baida RP1 (1accession)
Bianculida (1accession)
Derbessi (6 accessions)
ICM (2 accessions)
Jeneh Kotifa (6 accessions)
Media (10 accessions)
Mahmoudi (11 accessions)
Med.98 (1 accession)
Mekki (1 accession)
Richi (1 accession)
Realshort (2accessions)
Realforte (1 accession)
Swabaa eljia (1 accession)
Sbei (7 accessions)
Souri (10 accessions)
Taganrog (2accessions)
.....etc.....

EPI

Couleur de l'épi
Densité de l'épi
Nombre d'épillets/ épi
Longueur de l'épi
Largeur de l'épi
Longueur de la barbe
Couleur de la barbe
Forme des glumes
Forme des glumelles

GRAIN

Couleur des grains
Longueur des grains
Largeur des grains
Epaisseur des grains
Forme des grains
Couleur des grains
Poids de mille grains
Nombre de grains/ épi

COUVERT
VEGETAL

Nombre de talles
herbacées
Nombre de talles épiées
Le rapport talles-
épis/talles herbacés
Longueur de la F. Drapeau
Largeur de la FD
Surface de la FD
Hauteur de la plante

Caractérisation phénologique

- Date d'épiaison
- Date de floraison
- Date de sénescence de la feuille drapeau
- Nombre de jours jusqu'à la maturité physiologique
- Durée du période végétative
- Indice de remplissage des grains
- Durée de remplissage des grains

Caractérisation biochimique et moléculaire

- Polymorphisme protéique par électrophorèse SDS Page et A Page
- Polymorphisme de l'ADN par marqueurs AFLP et SSR

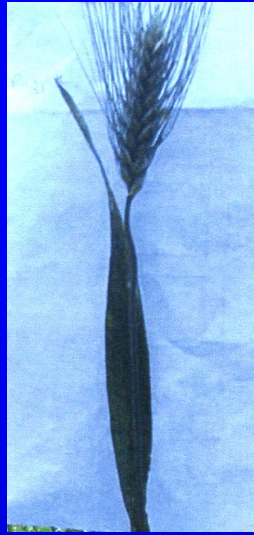


Caractérisation et analyse de la diversité du patrimoine génétique

Réalisation d'un catalogue descriptif

Pureté Variétale

K A R I M



Port de la dernière feuille



Coloration des barbes



Disposition de la barbe



Section de la paille



Pilosité des glumes



Bec de la glume



Forme de la carène



Bec de la glumelle

K H I A R



Port de la dernière feuille



Coloration des barbes



Disposition de la barbe



Section de la paille



Pilosité des glumes



Bec de la glume



Forme de la carène



Bec de la glumelle

R A Z Z A K



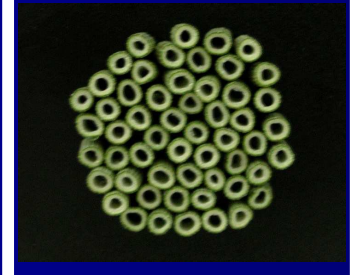
Port de la dernière feuille



Coloration des barbes



Disposition de la barbe



Section de la paille



Pilosité des glumes



Bec de la glume

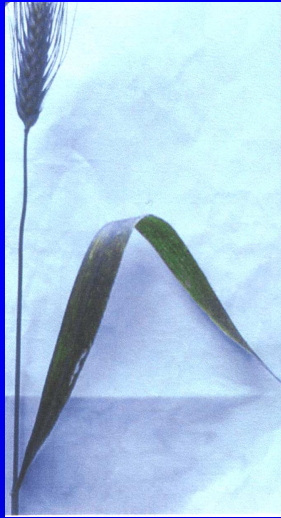


Forme de la carène



Bec de la glumelle

O M R A B I A



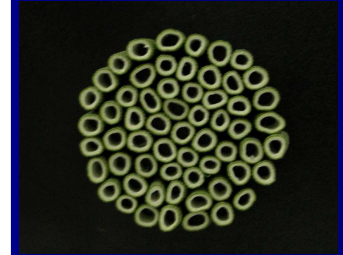
Port de la dernière feuille



Coloration des barbes



Disposition de la barbe



Section de la paille



Pilosité des glumes



Bec de la glume



Forme de la carène



Bec de la glumelle

Divergence de la barbe de l'épi



Barbe non divergente



Barbe faiblement divergente



Barbe divergente

Non divergente : Arbi 1, Arbi 2, Agili 3, Agili bariole, Agili glabre AP1, Agili glabre RP2, Derbassi AC3, Derbassi AP1, Derbassi AP2, Derbassi RD1, Derbassi AC1, Hamira 1, Hamira 10, Biskri glabre AP2, Biskri pubescent AC, Biskri velu RC1, Media 2, Media 4, Media 6, Media 7, Media 8, Souris 6, Souris 10, Sbei 1, Baida RP1.

Faiblement divergente : Agili 1, Agili 2, Agili 5, Agili glabre RC1, Agili glabre RC2, Agili glabre RP1, Agili 4, Agili Bariole glabre, Agili pubescent AP2, Biskri glabre AC2, Biskri glabre, Biskri glabre RP2, Biskri pubescent AC, Biskri pubescent, AP1, Biskri glabre RP1, Hamira 3, Hamira 7, Hamira 8, Hamira 9, Hamira 11, Hamira 12, Hamira 13, Azizi AP9, Azizi AP6,, Souris 1, Souris 2, Souris 3, Souris 4, Souris 8, Souris 11, Sbei velu bas1, Sbei velu bas 2, Sbei pubescent 1, Sbei pubescent 2, Sbei glabre 1, Sbei glabre 2, F-98 1, F-98 2, Real forte 1, Real forte 2, Adjini AC1, Adjini RC1, Adj 98, Aoudj 1, Aoudj 2, Media 1, Media 3, Media 5, Media 9, Media 10, Bidi AP2, Bidi AP1, Richi,, Mekki, Taganrog Mahmoudi.

Divergente : Jeneh Kotifa 1, Jeneh Kotifa 2, Jeneh Kotifa 3, Jeneh Kotifa 4, Jeneh Kotifa 5, Jeneh Kotifa 6, Jeneh Kotifa 98, Hamira 2, Hamira 4, Hamira 5, Hamira 6, Bidi AP3, Bidi AP4, Bidi AP5, Azizi AC2, Azizi AP1, Azizi AP3, Azizi AP4, Souris 5, Souris 7, Souris 9, Mahmoudi glabre 1, Mahmoudi glabre 2, Mahmoudi pb, Mahmoudi glabre 3, Mahmoudi glabre 4, Mahmoudi glabre 5, Mahmoudi glabre 6, Mahmoudi 2, Mahmoudi 3, Mahmoudi 4, Real sorte 1, Real sorte 2, Biskri glabre AP3 , Taganrog 2, Derbassi, Real forte 3, Swabaa Elgiaa, Bianculida, Agili blanc.

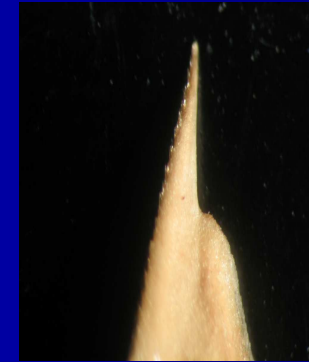
La forme du bec



Bec coudé



Bec droit



Bec légèrement incliné

La pilosité du rachis



Pilosité faible

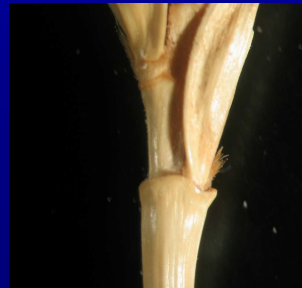


Pilosité moyenne



Pilosité forte

Position du premier article par rapport au collet de l'épi

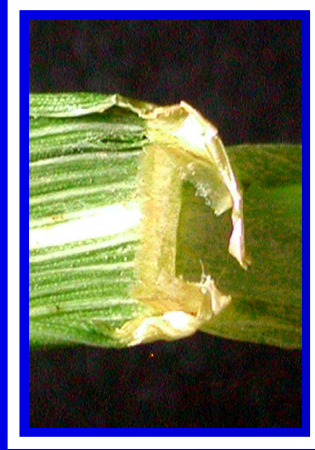


Position verticale



Position inclinée

Salambo



Byrsa



Port de la
dernière
feuille

Coloration
et ciliation
des
oreillettes

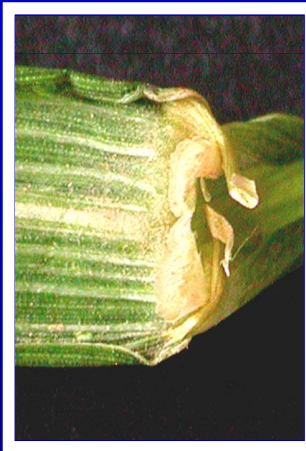
Glume
inférieure

Bec de la
glume

Utique



Tebica



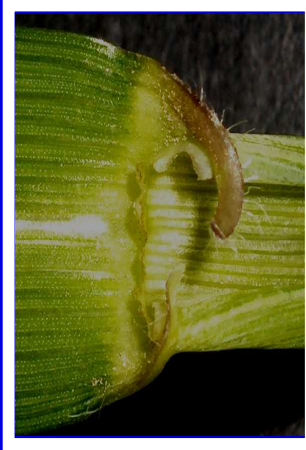
Port de la
dernière
feuille

Coloration
et ciliation
des
oreillettes

Glume
inférieure

Bec de la
glume

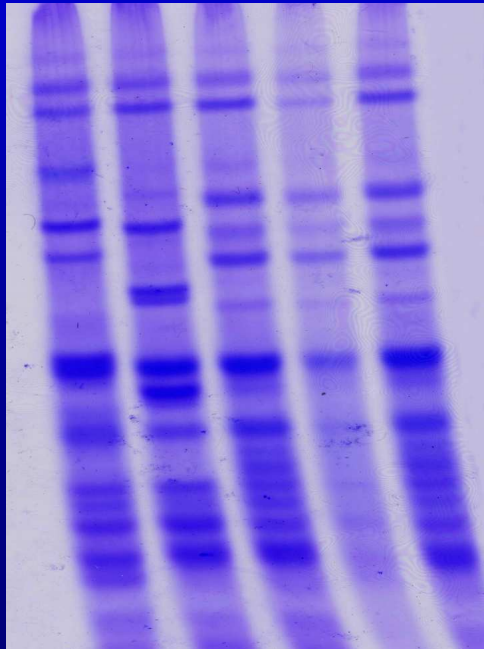
Vaga



Polymorphisme Protéique

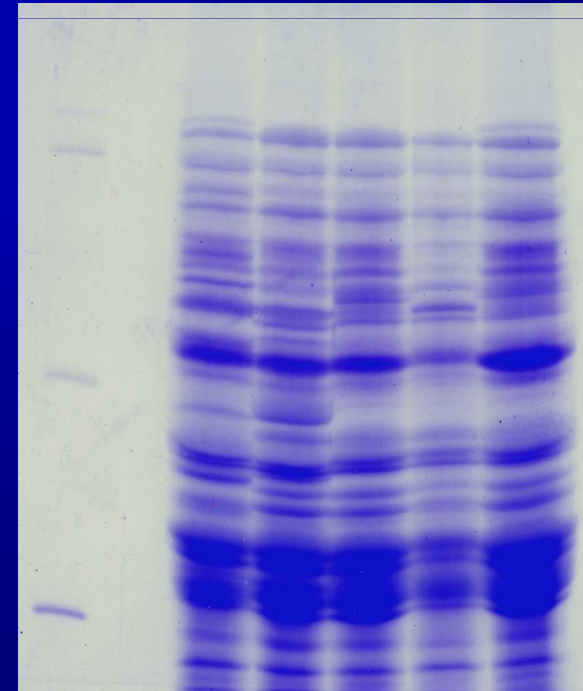
S U B T V

A-PAGE

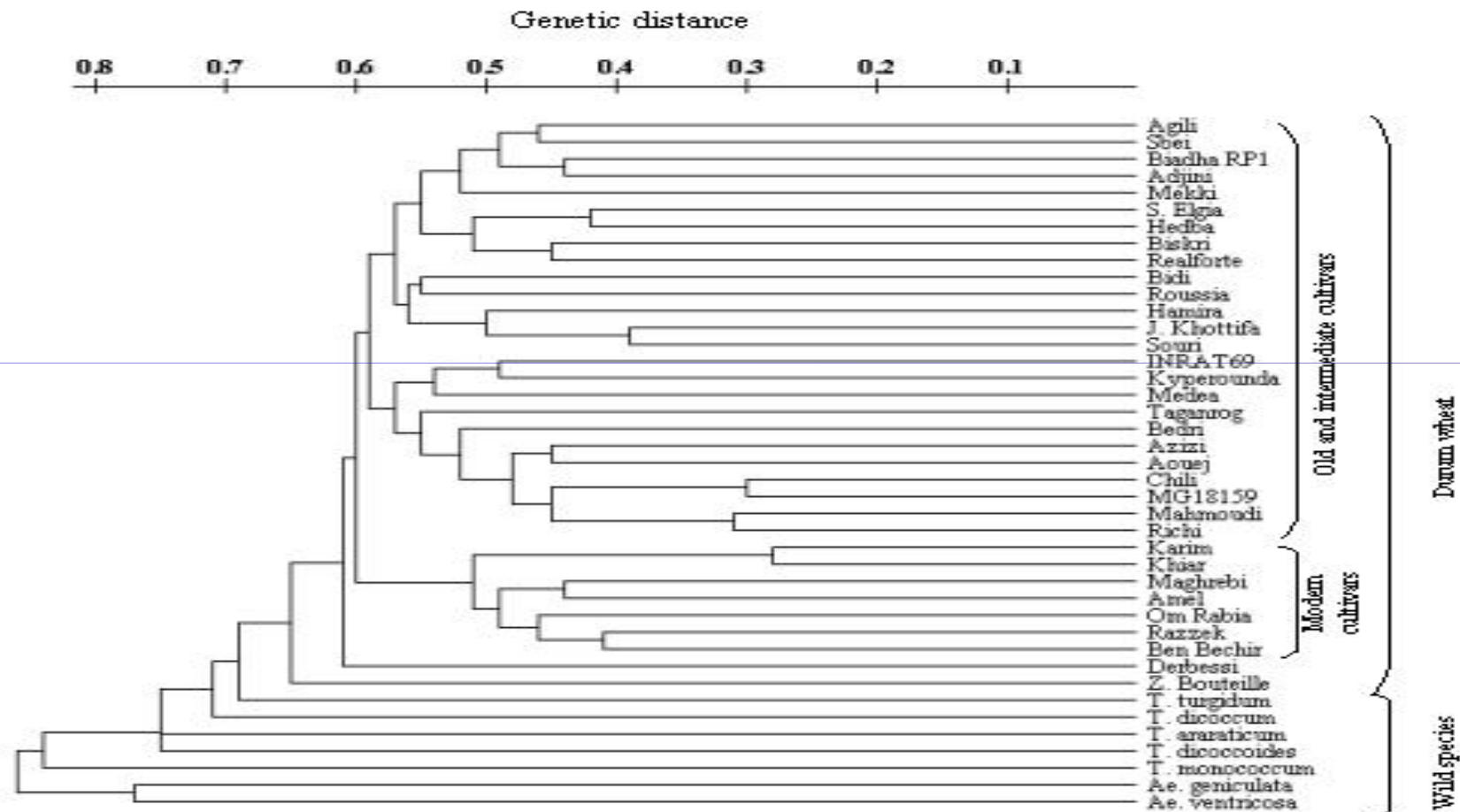


S U B T V

SDS-PAGE



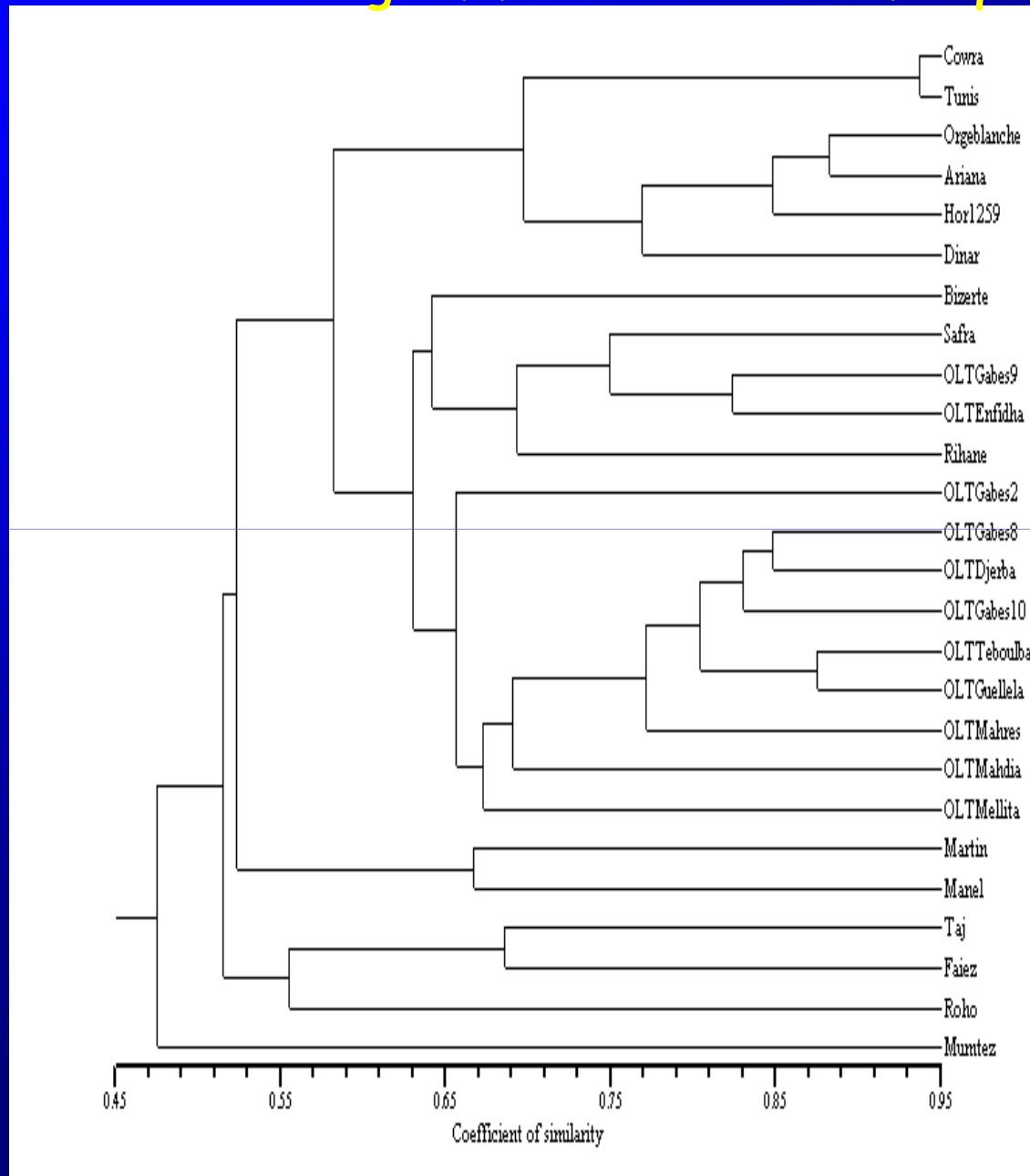
Caractérisation moléculaire Polymorphisme de l'ADN par marqueurs AFLP et SSR



Dendrogramme de 34 cultivars de blé dur anciens, introduits et modernes ainsi que 7 espèces sauvages apparentées révélé par la méthode UPGMA basé sur la combinaison des résultats obtenus par AFLP et SSR

Caractérisation moléculaire

Dendrogramme basé sur les marqueurs SSR



Ia: orges
fourragères

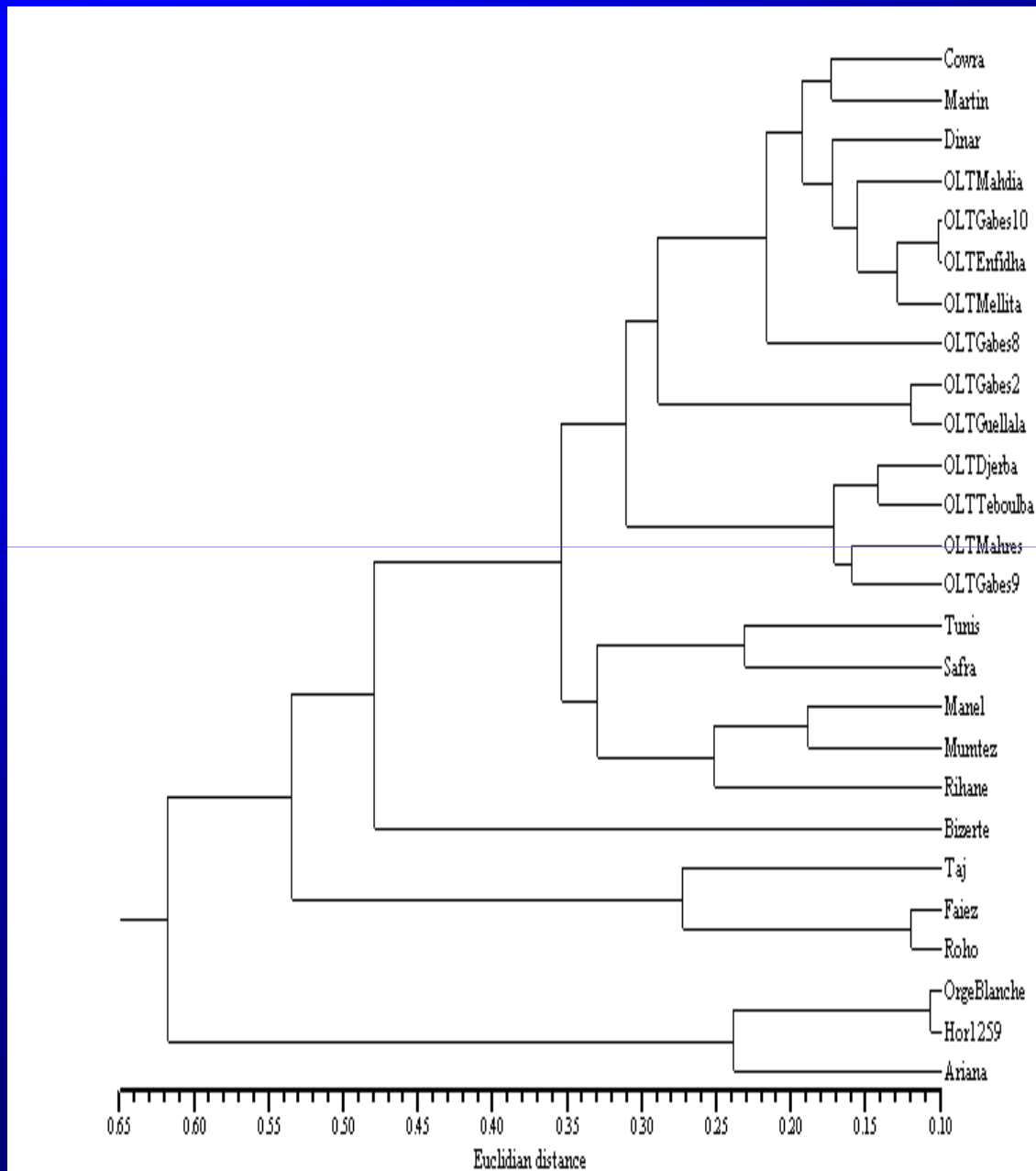
Ib: orges
locales et
introduites

II

III: Orges à 2 rangs

* IV

Dendrogramme basé sur les données agromorphologiques



Orges locales

Cultivar à
haut
rendement

Cultivar à 2 rangs

Orges fourragères

THEME 1

APPROCHES D'AMÉLIORATION DES CÉRÉALES

Action 2

Intégration de la CIV cellulaire et tissulaire pour l'amélioration
des céréales

Sous action 1 : Utilisation de l'haplodiploïdisation et des
mutations induites pour l'amélioration du blé dur et de
l'orge

Intégration de la CIV en Amélioration des plantes

Embryogenèse Somatique



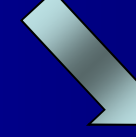
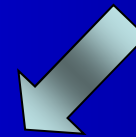
Embryons matures / immatures



Variabilité Somaclonale



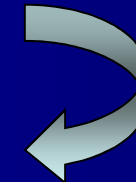
Embryogenèse gamétophytique



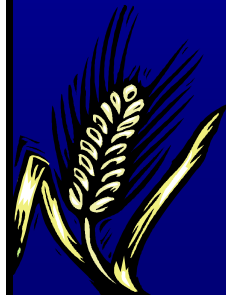
Androgenèse

Gynogenèse

H.I



Variabilité Gamétoclonale



Sélection *in vitro* pour la tolérance aux stress abiotiques

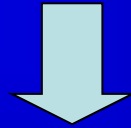


Nouvelles approches de sélection basées sur des outils non conventionnels :




Haplodiploïdisation et Mutations induites  **Gain de temps**
 **Précision de sélection**

 **Optimisation du rendement androgénétique et gynogénétique globale**

 **Meilleure compréhension du phénomène d'albinisme**



en agissant sur :

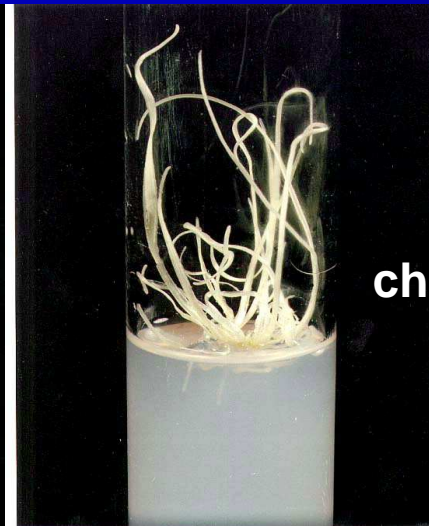
-  **la nature du prétraitement,**
-  **la composition des milieux de culture (régulateurs de croissance)**
-  **l'identification du stade optimal de prélèvement des explants.**

Culture d'anthères chez le blé dur



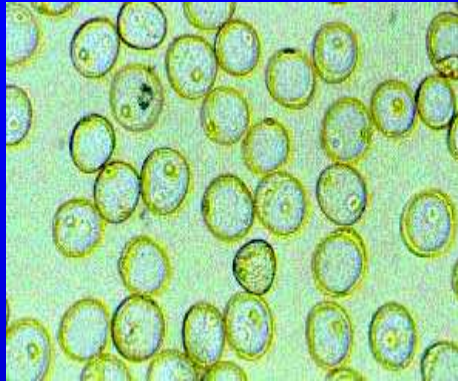
Induction d'embryons androgénétiques (32°C + Obscurité)

Phase de régénération de cals (25°C + Photopériode 16h)



Production de plantes haploïdes chlorophylliennes et albina

Culture des microspores isolées chez le blé dur



**Microspores
mises en culture**



**Microspores
gonflées**



**Proembryon libéré
de l'exine à 15j de
culture**



**Embryons
androgénétique 3 à 4
semaines de culture**

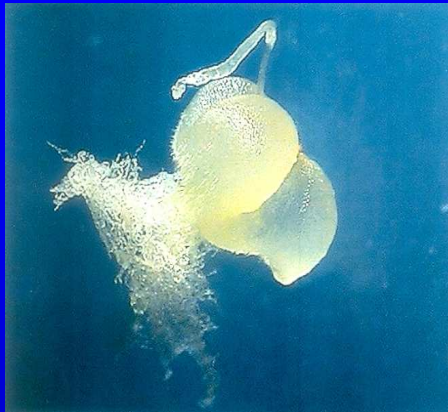


**Plantes haploïdes
vertes**



**Plantes haploïdes
albina**

Culture d'ovaires non fécondés chez le blé dur



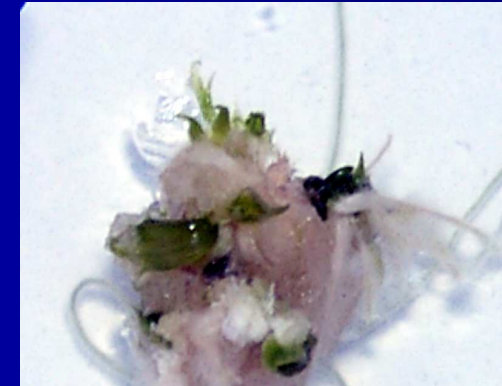
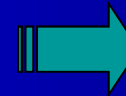
Phase Induction

4 à 6 semaines
25°C - Obscurité



Phase Différentiation

6 semaines Photopériode 16h/8h
22°C/18°C

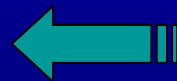
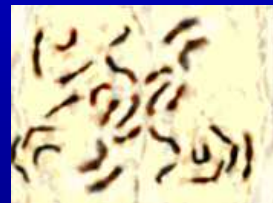


Phase Développement

4 semaines 16h/8h
22°C/18°C

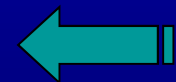


HDs fertiles Acclimatation



Doublement du stock chromosomique

Traitement Colchicine 1% +
Tween 20 (4heures)



Phase régénération

4 semaines - 16h/8h
22°C/18°C

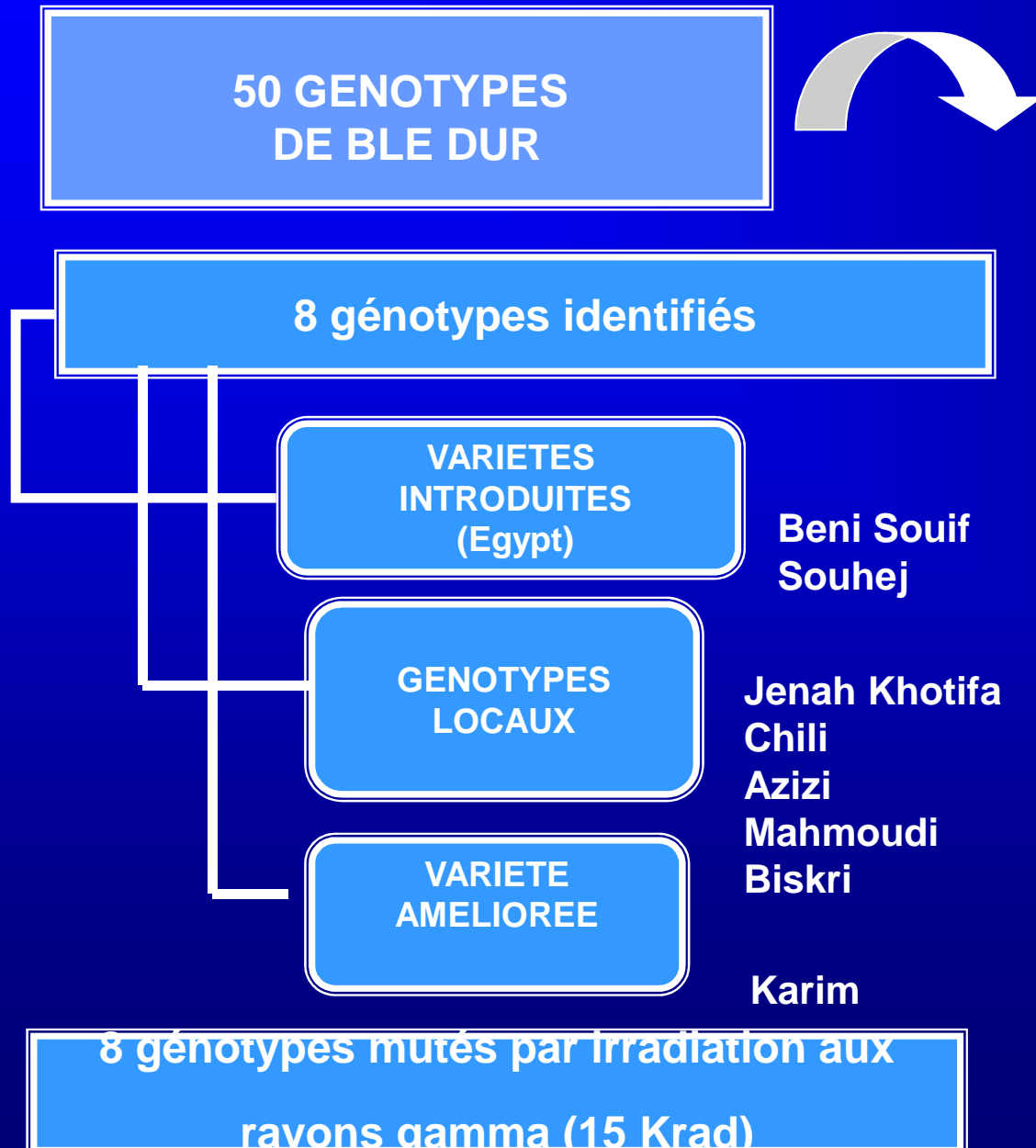
- Mise en évidence du stade optimal de prélèvement des épis pour le blé dur



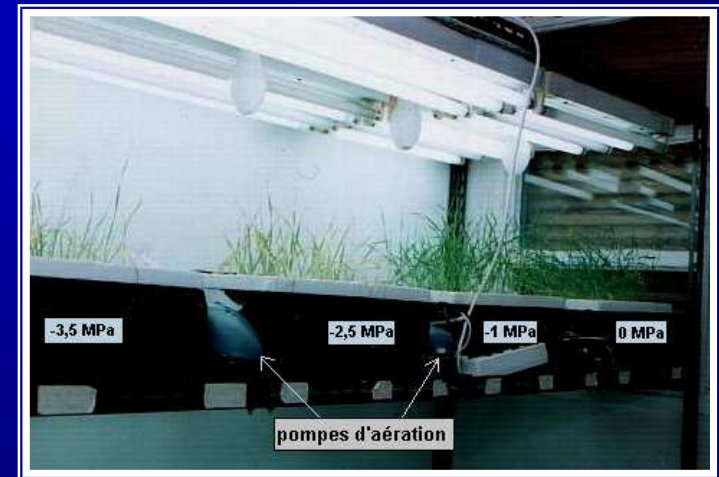
Stade cytologique correspondant au stade morphologique pour la mise en culture des explants chez le blé dur: **stade uninucléé tardif à binucléé**

- **10.4%** de plantes chlorophylliennes chez le blé dur tunisien contre **1.31%** (Jaiti et *al.*, 2000)
- Le prétraitement au PEG 1% pendant 10 jours a permis d'améliorer le taux d'induction et a donné **18%** de plantes **toutes chlorophylliennes**
- La gynogénétique permet de contourner le problème d'albinisme
- **Approche moléculaire** : Comparaison des résultats de quantification de l'ADN plastidial par rapport à l'ADN nucléaire des plantes vertes et albina afin de vérifier si la cause de l'apparition des plantes albina est une dégradation de l'ADN plastidial au cours des phases précoces de l'embryogenèse.

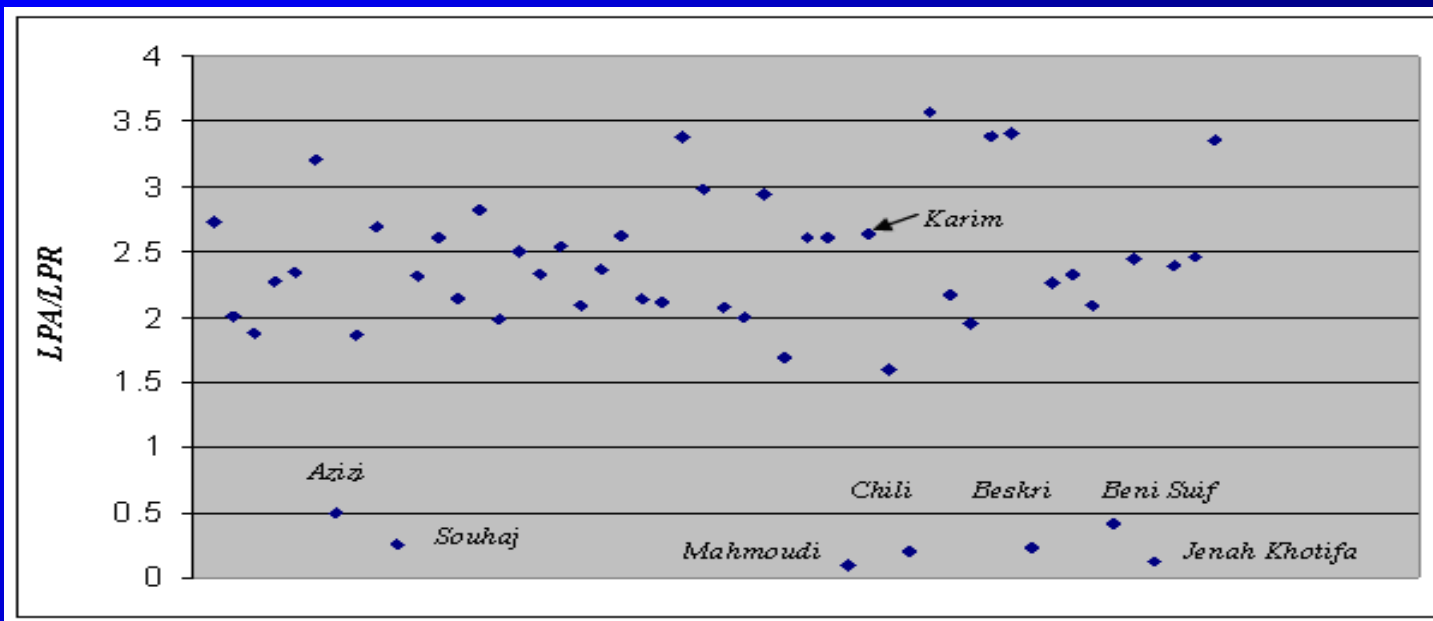
Utilisation des mutations induites comme source de variabilité pour l'amélioration des céréales



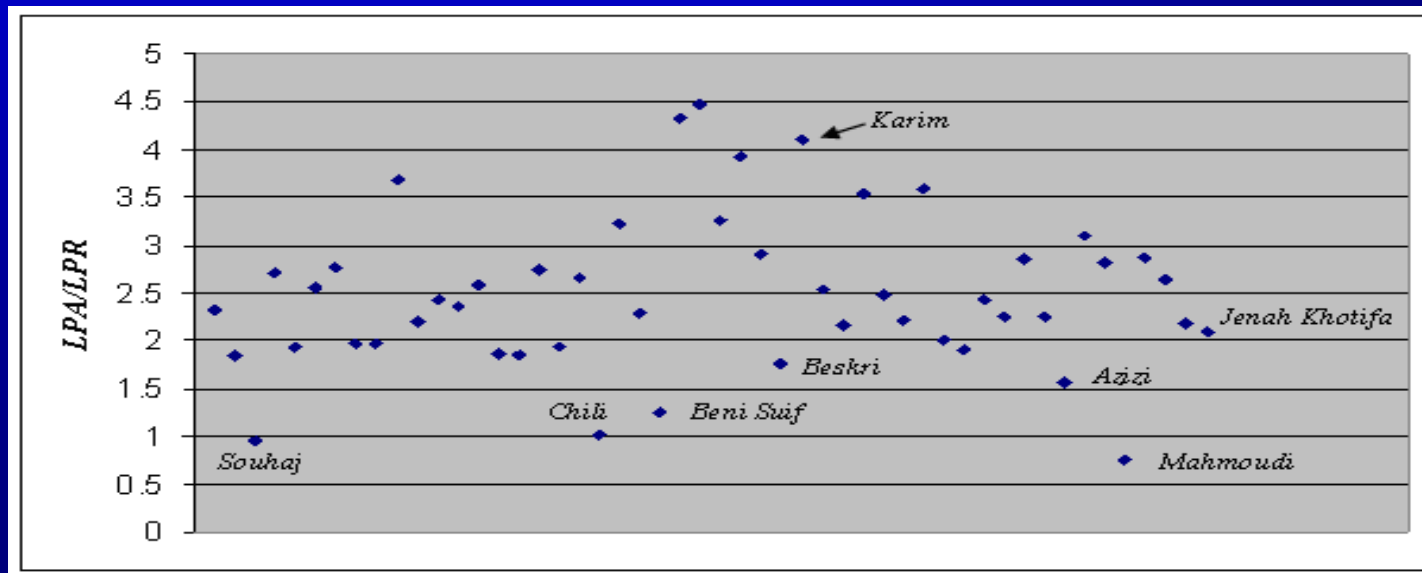
Les génotypes semés dans une Parcelle à L'INAT



Étude de l'effet du PEG₈₀₀₀ et de NaCl par Culture hydroponique



Effet du PEG8000 (-2,5 MPa) sur « LPA/LPR » chez les 50 génotypes de blé dur testés



Effet de NaCl (100 mM) sur « LPA/LPR » chez les 50 génotypes de blé dur testés

Mutants M0



Les géotypes semés dans une Parcelle à l'INAT



Mutants M1

population F₁



**Production des lignées Haploïdes
Doublées Tolérantes**

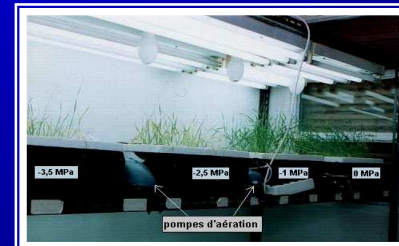


Variétés améliorée

Mutants tolérants



Les géotypes semés à nouveau
Dans la Parcelle



Étude de l'effet de PEG₈₀₀₀ et NaCl
par Culture hydroponique



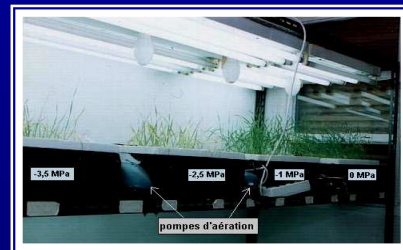
Les géotypes semés
à nouveau



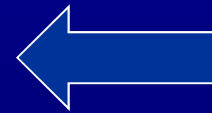
Mutants M2



**LPA/LPR
Chl a/Chl b
xanthophylles
caroténoïdes**



Étude de l'effet de PEG₈₀₀₀ et NaCl par
une nouvelle Culture hydroponique



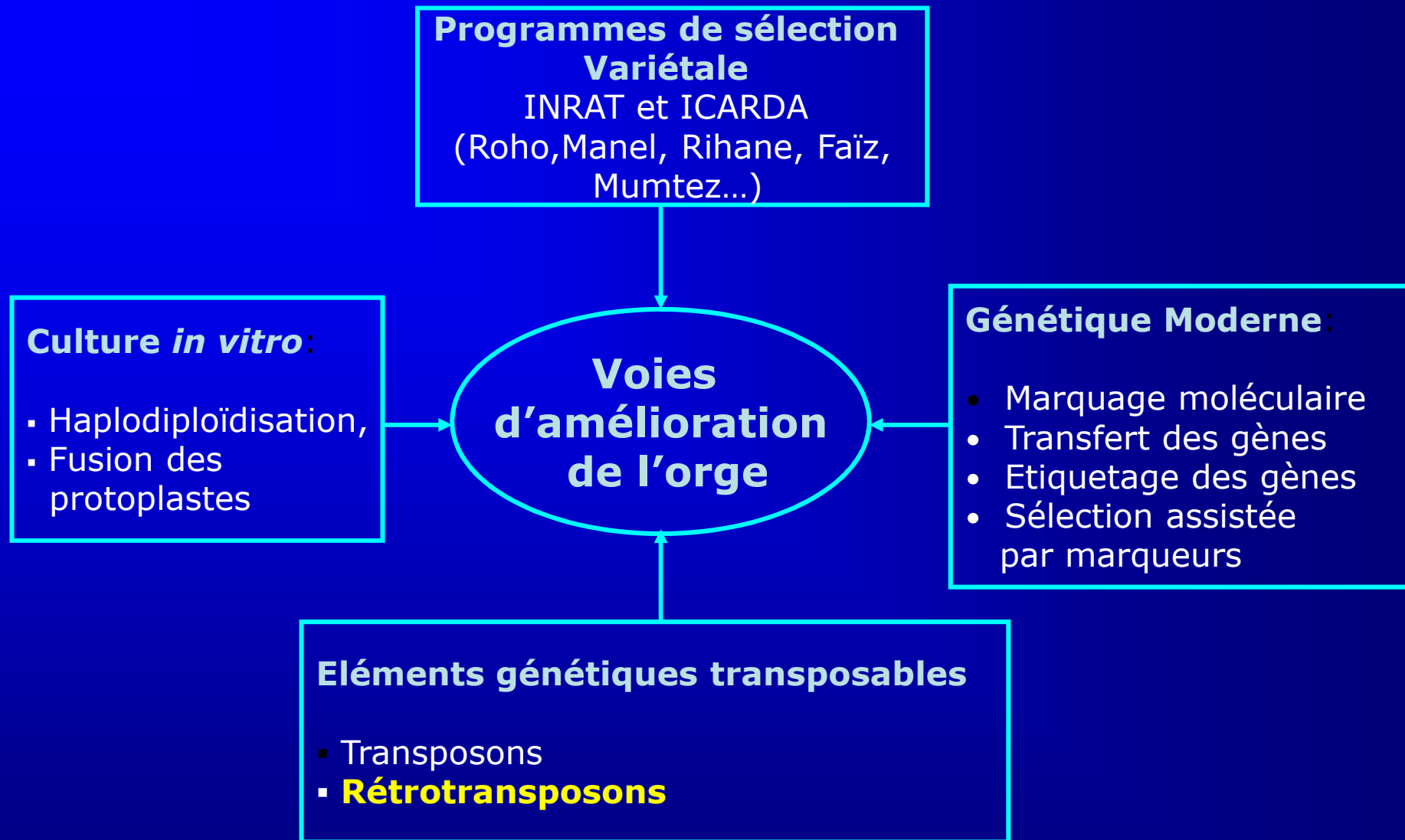
THEME 1

APPROCHES D'AMÉLIORATION DES CÉRÉALES

Action 2

Intégration de la CIV cellulaire et tissulaire pour l'amélioration
des céréales

Sous action 2 : Utilisation des rétrotransposons comme
source de diversité génétique chez l'orge



Éléments génétiques mobiles existant dans le génome des plantes et ayant la particularité de générer des mutations stables dans leurs génomes hôte.

Facteurs d'activation des rétrotransposons chez les plantes



Culture des tissus



Stress physiques:
blessure des
tissus, UV...

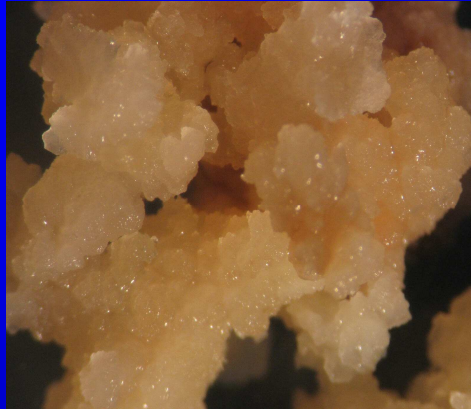
Champignons, bactéries,
nématodes

Stress chimiques: Acide
salicylique, acide
jasmonique...

Orge

Génotypes	Origine	Productivité	Autres caractéristiques
Ardhaoui	Tunisie	faible	Sensible à la verse et aux parasites
Souihli	Tunisie	Faible	Sensibles aux maladies
GPK01	Pakistan	Moyenne	Tolérant aux maladies
GPK99	Pakistan	Moyenne	Tolérant aux maladies
Martin	Algérie	Moyenne	Résistance moyenne à la sécheresse, sensibilité aux maladies
Rihane	ICARDA	Bonne	Précoce, sensible aux parasites
Manel	INRAT	Elevée	Précoce, résistante aux maladies et à la verse

Culture *in vitro*



Stress physiologiques



- Activer les rétrotransposons Ty1-copia dans le génome de l'orge
- Analyser l'activité transcriptionnelle des rétrotransposons actifs



Induire des mutations stables et bénéfiques pour l'amélioration

THEME II

INTERACTION PLANTES-PATHOGENES

Action 1 : Caractérisation génétique et biochimique des champignons phytopathogènes

Cas de *Septoria tritici* agent causal de la septoriose du blé en Tunisie

- Caractérisation pathologique
- Analyse de la diversité génétique
- Identification des toxines produites dans les filtrats de culture

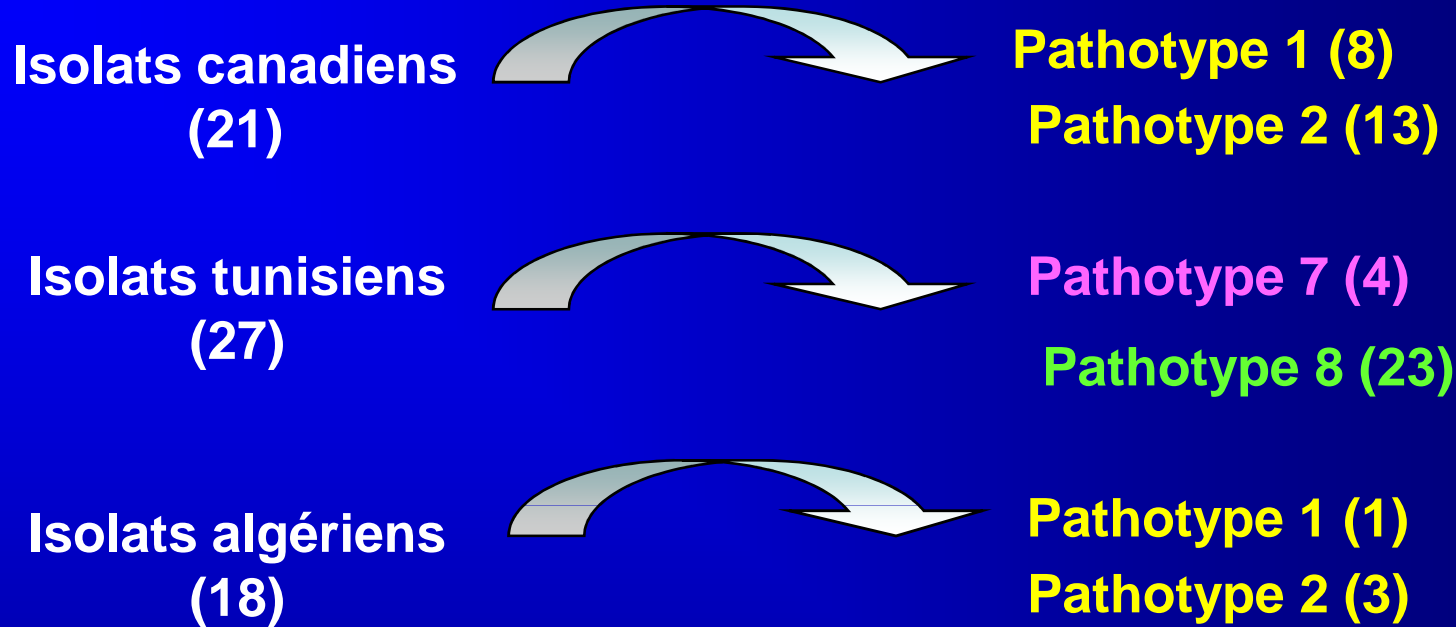


CARACTERISATION PATHOLOGIQUE

INTERACTION BLE-S. TRITICI

		Pathotypes							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Blé tendre	Erik	+	+	+	+	+	+	-	-
	4B1149	+	+	+	+	+	+	-	-
	Amazon	+	+	-	+	+	+	-	-
	ST6	-	+	+	+	+	-	-	-
Blé dur	Sceptre	-	-	-	+	+	-	+	+
	Coulter	-	-	-	-	+	+	+	+
	4B160	-	-	-	-	-	-	+	-
	Salamouni	-	-	-	-	-	+	-	-

Distribution des Pathotypes

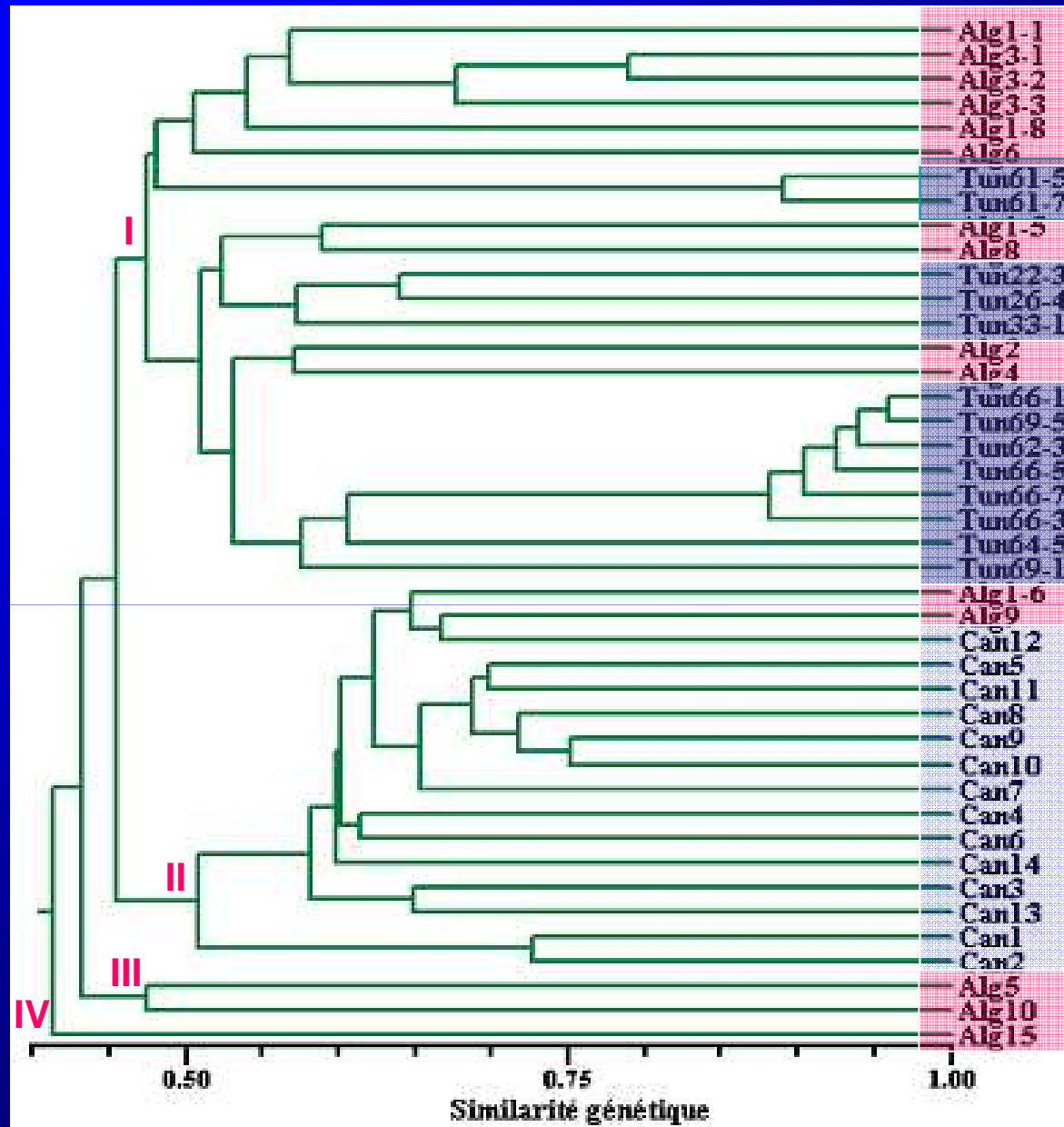


Analyse moléculaire par les marqueurs AFLP

Diversité génétique

Combinaison d'amorces	h_s		
	P_{alg}	P_{tun}	P_{can}
Ensemble des locus	0.338	0.277	0.263

Pathotype



Dendrogramme construit par la methode UPGMA des 42 isolats de *S. tritici*

Isolement et purification de toxines produites dans les filtrats de culture

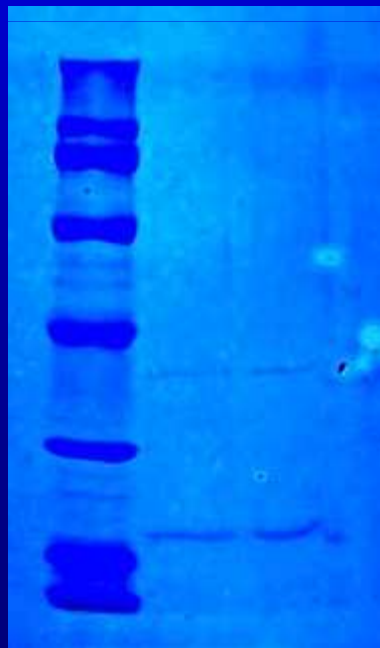
Inoculation des extraits protéiques



Karim

Haïdra

Salamouni



Purification par chromatographie sur colonne et gel d'acrylamide

THEME II

INTERACTION PLANTES-PATHOGENES

**Action 2: Amélioration génétique de l'orge pour la
résistance aux maladies**

- **Identification de lignées d'orge ayant une double résistance à la rayure réticulée et à la rhynchosporiose**
- **Etablissement de cartes de liaisons génétiques pour l'orge**
- **Identification des QTL associés à la résistance de l'orge à la rayure réticulée**

Deux Populations haploïde-doublés (HD):

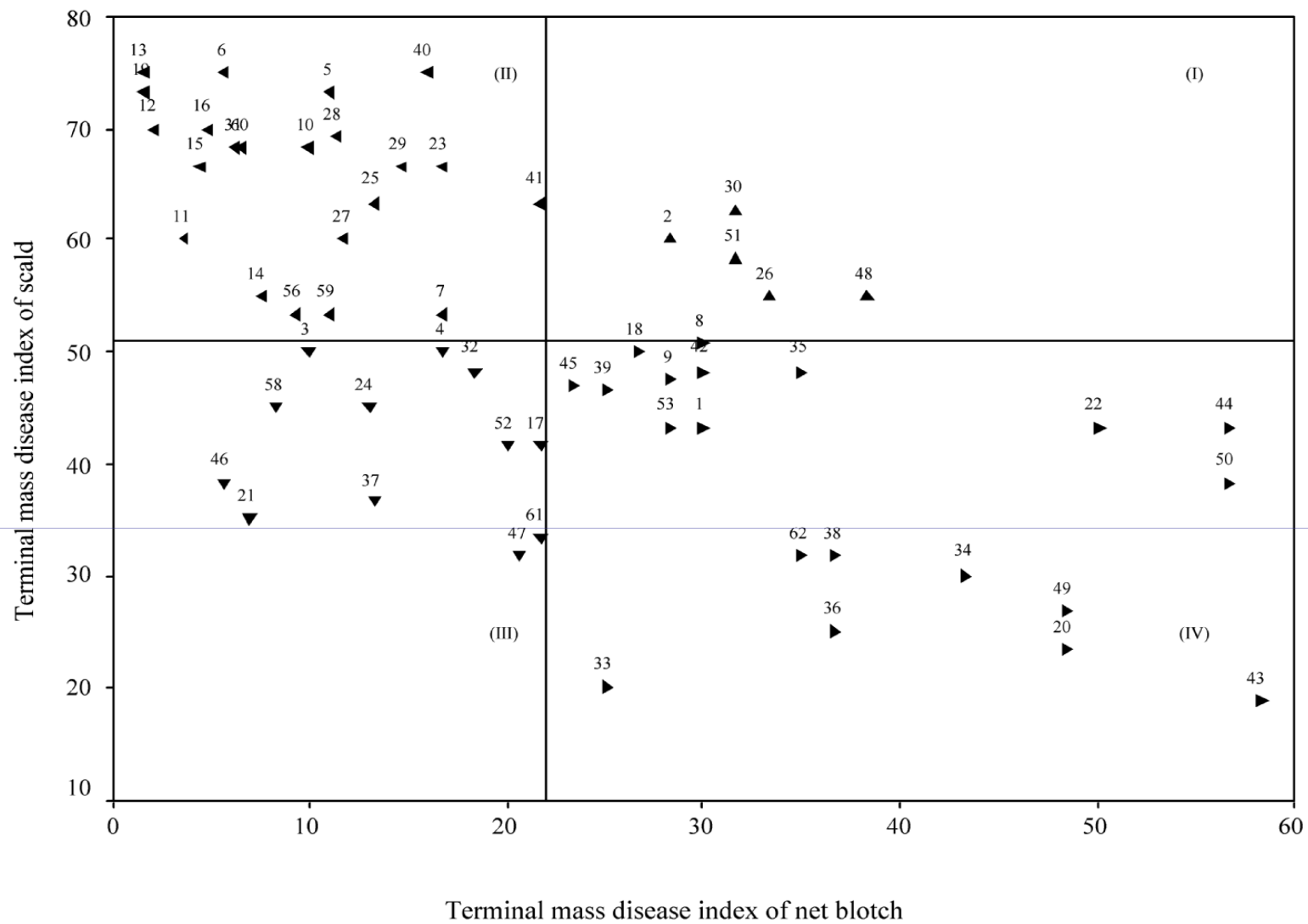
Population	Nb de lignées HDs
Lignée 90 x Roho	59
Lignée 1 x Rihane	77

- Les croisements d'origines sont réalisés à L'INAT
- Les HD sont produits à la Firme: Florimond Desprez à partir de la F1

Lignées HD les plus tolérantes aux attaques simultanées de rayure réticulée et de rhynchosporiose sur la base de la PPDS

Indice Attaque 2003		Indice Attaque 2004		Surface au dessous de la courbe d'évolution des attaques 2004	
HD	Moyenne ^b	HD	Moyenne ^b	HD	Moyenne ^b
15	2.18 ^a	58	53.33 ^a	21	1947.90 ^a
56	1.98 ^a	47	52.33 ^a	33	1944.60 ^a
58	1.94 ^a	37	50.00 ^a	36	1824.60 ^a
46	1.92 ^a	33	45.00 ^a	46	1748.70 ^a
26	1.90 ^a	46	44.00 ^a	47	1748.70 ^a
60	1.71 ^a	21	42.00 ^a	37	1190.30 ^a
8	1.67 ^a	'Martin'	67.35 ^b	'Martin'	2574.45 ^{ab}
47	1.65 ^a	'Manel'	71.14 ^b	'Manel'	3084.26 ^{bc}
53	1.65 ^a	'Rihane'	76.83 ^b	'Rihane'	3822.74 ^c
61	1.45 ^a				
33	1.41 ^a				
11	1.39 ^a				
59	1.32 ^a				
16	1.06 ^a				
39	0.75 ^a				
21	0.72 ^a				
13	0.66 ^a				
37	0.57 ^a				
'Martin'	5.57 ^b				
'Manel'	6.23 ^b				
'Rihane'	23.69 ^c				

^b Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significatives à P = 0.05 selon la PPDS

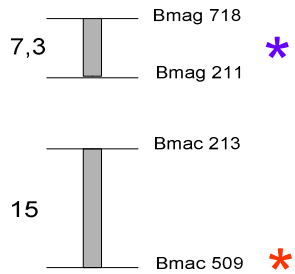


Projection des lignées HD selon 2 axes : axe de réaction à l'*Helminthosporium teres* et axe de réaction à la *Rhynchosporium secalis*

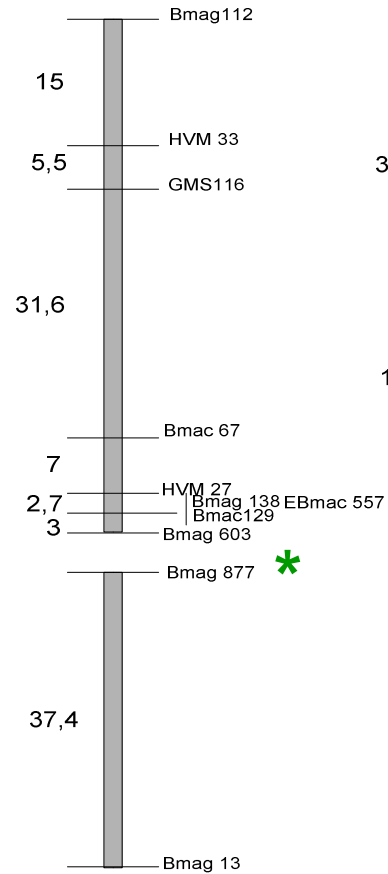
Identification de QTLs de résistance à l'Helminthosporiose

- Population: 77 haplodiploïdes issus du croisement
Rihane (sensible) X lignée 1a (résistante)
- Nombre de marqueurs polymorphes : 51
- Nombre de marqueurs cartographiés: 30
- Groupe de liaison : 9 réparties sur 5 des 7 chromosomes de l'orge

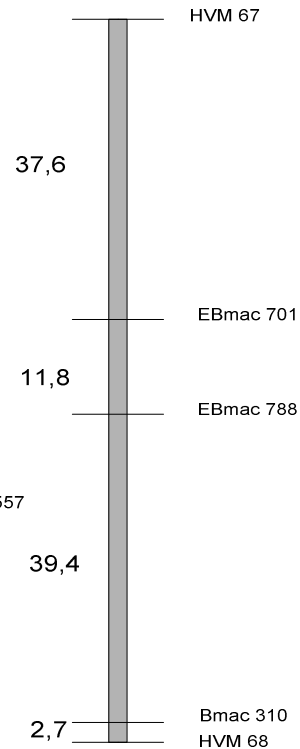
1H



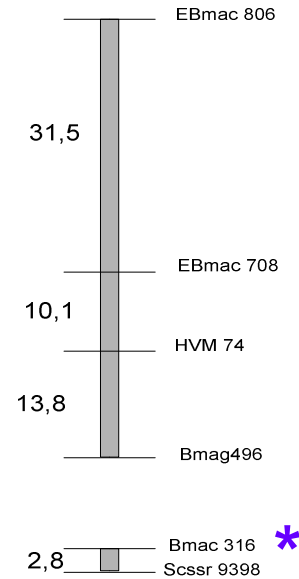
3H



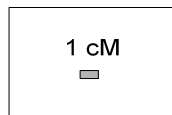
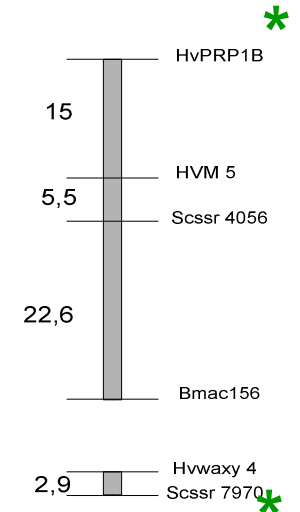
4H



6H



7H



- QTL de résistance à l'helminthosporiose après infection naturelle
- QTL de résistance à l'helminthosporiose après infection artificielle
- QTL de résistance à l'helminthosporiose commun aux 2 types d'infection

Thème III

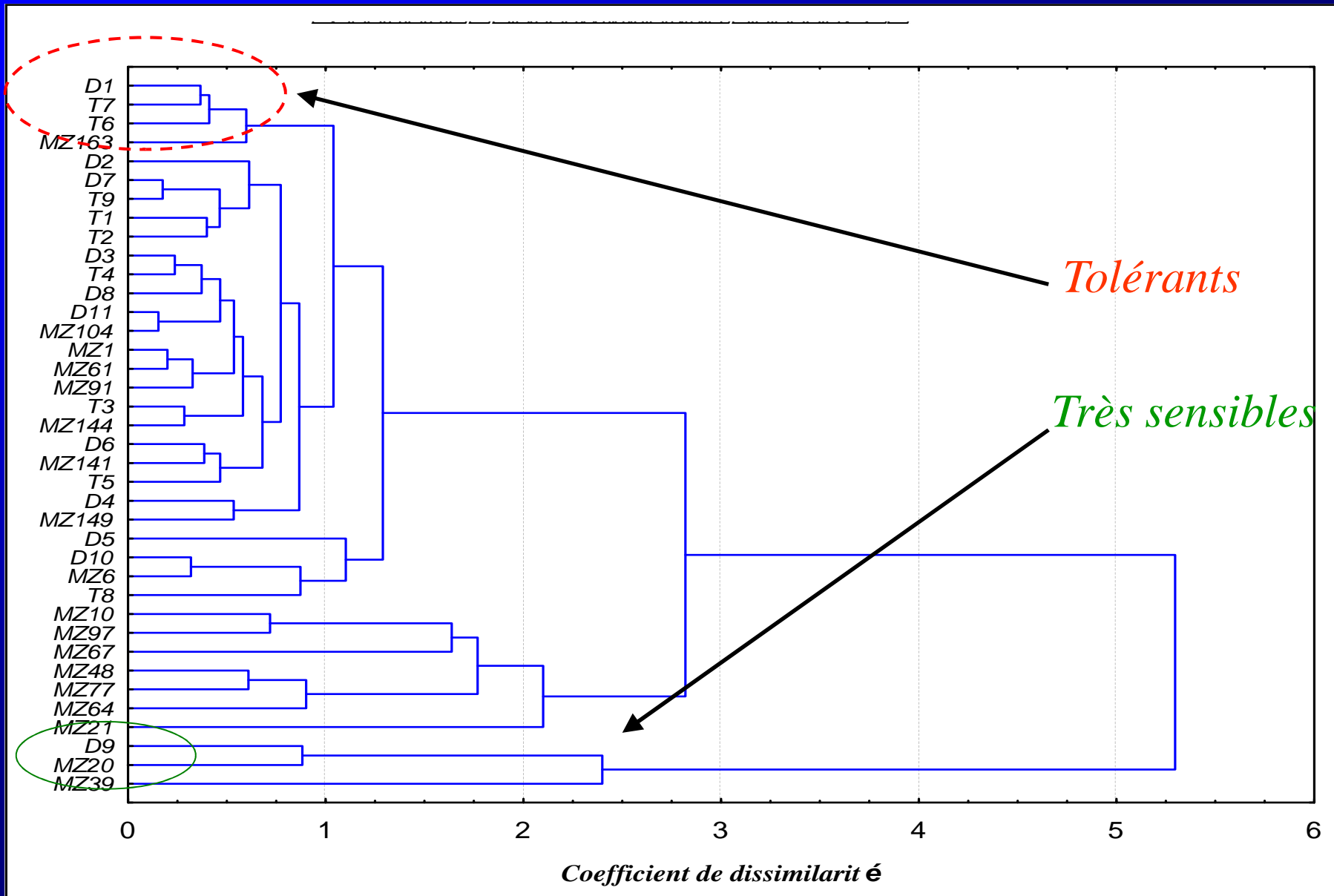
TOLERANCE DES CEREALES A LA SALINITE ET A LA SECHERESSE

Action 1 : Approche intégrative pour l'étude des mécanismes de tolérance du blé dur et de l'orge à la salinité et à la sécheresse

Recherche de nouvelles sources de tolérance à la salinité

Aegilops <i>Aegilops geniculata</i>		Blé dur (<i>Triticum durum</i> Desf.)		Blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>)	
Variété	Origine	Variété	Origine	Variété	Origine
MZ1	CIMMYT	Sooty9 / Rascon 37	CIMMYT	Prinia	CIMMYT
MZ6	CIMMYT			Pastor	CIMMYT
MZ10	CIMMYT	Dukem12/2 * Rascon 21	CIMMYT	Baviacora	CIMMYT
MZ20	France	Kucuk	CIMMYT	Babax/Lr42/Babax	CIMMYT
MZ21	France	Topdy 18/focha1//Altar84	CIMMYT	Weebill1	CIMMYT
MZ39	Mauritanie	Mexicali75	CIMMYT	Csph	CIMMYT
MZ48	France	Jenah khotifa	Local	Utique	Local
MZ61	Tunisie	Azizi AP4	Local	Salambo	Local
MZ64	Libye	Karim	Local	Vaga	Local
MZ67	Libye	Om rabia	Local		
MZ77	CIMMYT	Hmira	Local		
MZ91	Syrie	Razzek	Local		
MZ97	Chypres				
MZ104	Turquie				
MZ141	Italie	BD : 6 Tunisiens + 5 CIMMYT			
MZ144	Italie	BT : 3 Tunisiens + 6 CIMMYT			
MZ149	Allemagne	Aegilops : 17 <i>Aegilops geniculata</i> + 1 <i>Aegilops umbellulata</i>			
<i>Aegilops umbellulata</i>					
MZ163	Iran				

Classification hiérarchique des génotypes testés



- L'efficacité photosynthétique (Fv/Fm) a été plus importante chez le blé tendre suivi du blé dur et de l'*Aegilops* → Génome D porteur du caractère de discrimination foliaire K⁺/Na⁺ chez le blé tendre.
- La variété Baviacora (Cimmyt) a pu résister à 9 g/l NaCl sans aucune perturbation significative du processus photosynthétique,
- Le seul *Aegilops* de type *umbellulata* testé semble être plus tolérant à la salinité que toutes les accessions d'*Aegilops geniculata* testées .

Etude de la stabilité de réponse à la salinité *in vivo* et *in vitro* chez le blé dur et l'orge

Blé dur

7 géotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.)

- ✓ 4 locaux : Azizi, Swebâa Eljia, Hmira, Jenah Khotifa.
- ✓ 2 cultivés : Karim, Om Rabia.
- ✓ 1 introduit : Oued Zeneti (Algérie).

Orge

5 géotypes d'orge (*Hordeium vulgare* L.)

- ✓ 1 Introduit : Pakistan 30118
- ✓ 4 locaux : Ardhawi Tataouine, Arbi Abiadh, Rihane et Manel.

Méthodologie

✓ Culture *in vitro* [(embryons matures (orge) et immatures (blé dur)].

✓ Culture en pots.

✓ Culture en hydroponie.

} Culture *in vivo*

✓ Test de germination

Paramètres mesurés *in vitro*, *ex vitro* et *in vivo*

Teneur en chlorophylles

Extinction chlorophyllienne

Teneur en sucre soluble

Dosage de la proline

Activité des peroxydases



Jenah Khotifa AP4, Azizi et Om rabia

Stabilité de réponse *in vitro* et *in vivo*

Identification de géotypes d'orge tolérants à la salinité *in vitro* et *in vivo*

Culture *in vitro*

% Induction
Taux de croissance des cals
% Cals régénérables
Nombre moyen de pousses
Nombre de vitroplants régénérés

1. Pakistan
2. Ardhaoui Tataouine
3. Arbi Abiadh

Culture *ex vitro* et *in vivo*

Chlorose des feuilles
Raccourcissement des tiges
Teneurs en Chlorophylles a et b

1. Pakistan
2. Ardhaoui Tataouine
3. Arbi Abiadh

Activité des Peroxydases

1. Ardhaoui Tataouine
2. Pakistan
3. Arbi Abiadh

Manel et Rihane très sensibles à la salinité



Pakistan 30118 se caractérise par une stabilité de réponse à la salinité (200 mM NaCl soit 11,6 g/l)

Etude comparative des mécanismes de tolérance aux stress hydrique et salin chez le blé dur

8 géotypes de blé dur

Azizi AC2 et Azizi AP4 / Jenah Khotifa 14, 89 et 150 / Karim, Om Rabia et Razzek.

Déficit Hydrique

PEG8000

0, -1, -2,5 et -3,5 MPa



Contrainte saline

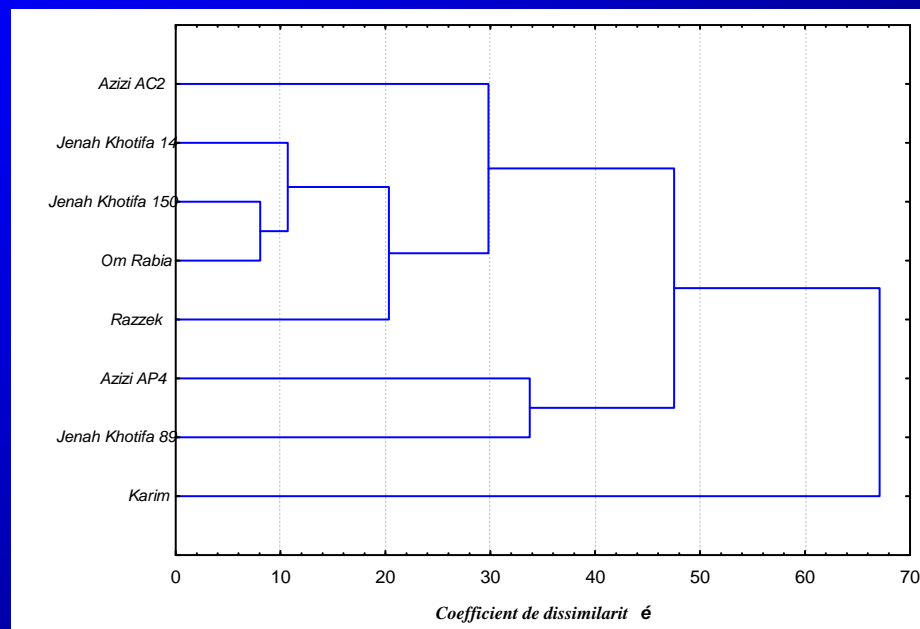
NaCl

0, 3, 6 et 9 g/l

Cinétique de germination,
Croissance foliaire et racinaire,
Teneur relative en eau et l'hydratation foliaire,
Fluorescence chlorophyllienne,
Teneur en chlorophylle a et b,
Teneur en proline,
Teneur racinaires et foliaires en Na⁺, K⁺, Cl⁻ et Ca²⁺



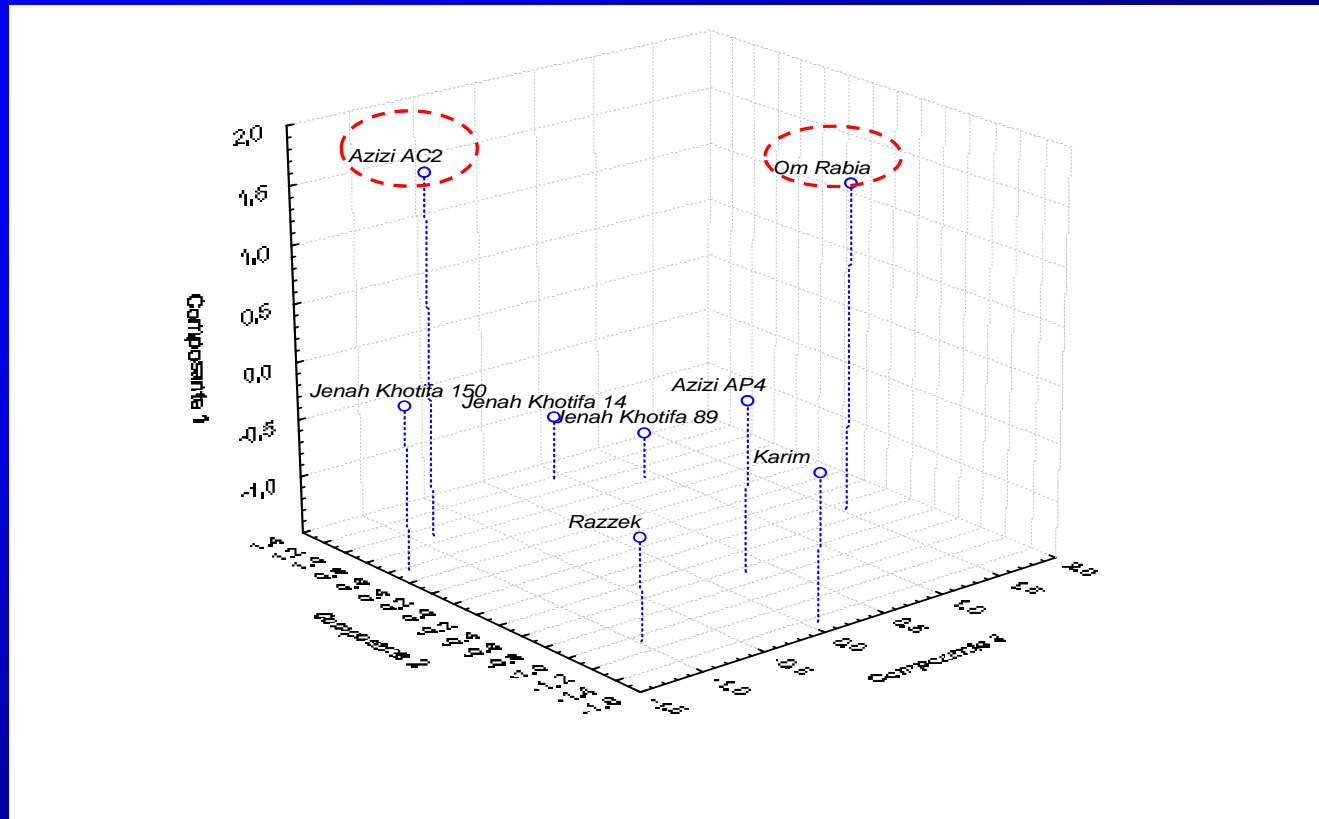
Effet combiné des 2 stress hydrique et salin Classification hiérarchique



Dendrogramme de la capacité germinative de l'ensemble des géotypes blé dur soumis aussi bien au stress salin qu'hydrique.

Azizi AC2 est tolérante aussi bien à la salinité qu'au déficit hydrique
Karim est sensible aux deux types de stress

ACP: Analyse intégrative des composantes de croissance des deux stress hydrique et salin



Analyse multivariée des différents paramètres morphologiques et physiologiques des 8 géotypes de blé dur sous l'effet des quatre traitements de NaCl et de PEG8000.

Comportements opposés de Om Rabia et Azizi AC2 → Om Rabia est tolérante à la sécheresse alors que Azizi AC2 est tolérante à la salinité.

→ les mécanismes de tolérance à la salinité sont plus liés à l'homéostasie ionique qu'à l'osmorégulation.



Thème III

TOLERANCE DES CEREALES A LA SALINITE ET A LA SECHERESSE

**Action 2: Clonage de gènes liés à la
tolérance à la salinité chez le blé dur.**

Stress hydrique

Stress hyperosmotique et déséquilibre de la balance ionique

Stress oxydatif



SALINITE

Mécanismes de tolérance

Excrétion du sel

Exclusion cytoplasmique et vacuolaire

Production d'antioxydants

Osmolytes compatibles

Etc.

Action 2 Clonage de gènes de tolérance à la salinité chez le blé dur.



Gènes dont l'expression corrélée avec la tolérance

Etude de l'expression
: V tolérante/Sensible

**Clonage des orthologues chez
le blé dur de gènes majeurs
identifiés chez *Arabidopsis***

Potentiellement :
utilisables pour de la
transformation génétique

Institut National Agronomique de Tunis
Laboratoire de Génétique et Amélioration des Plantes

Thème IV

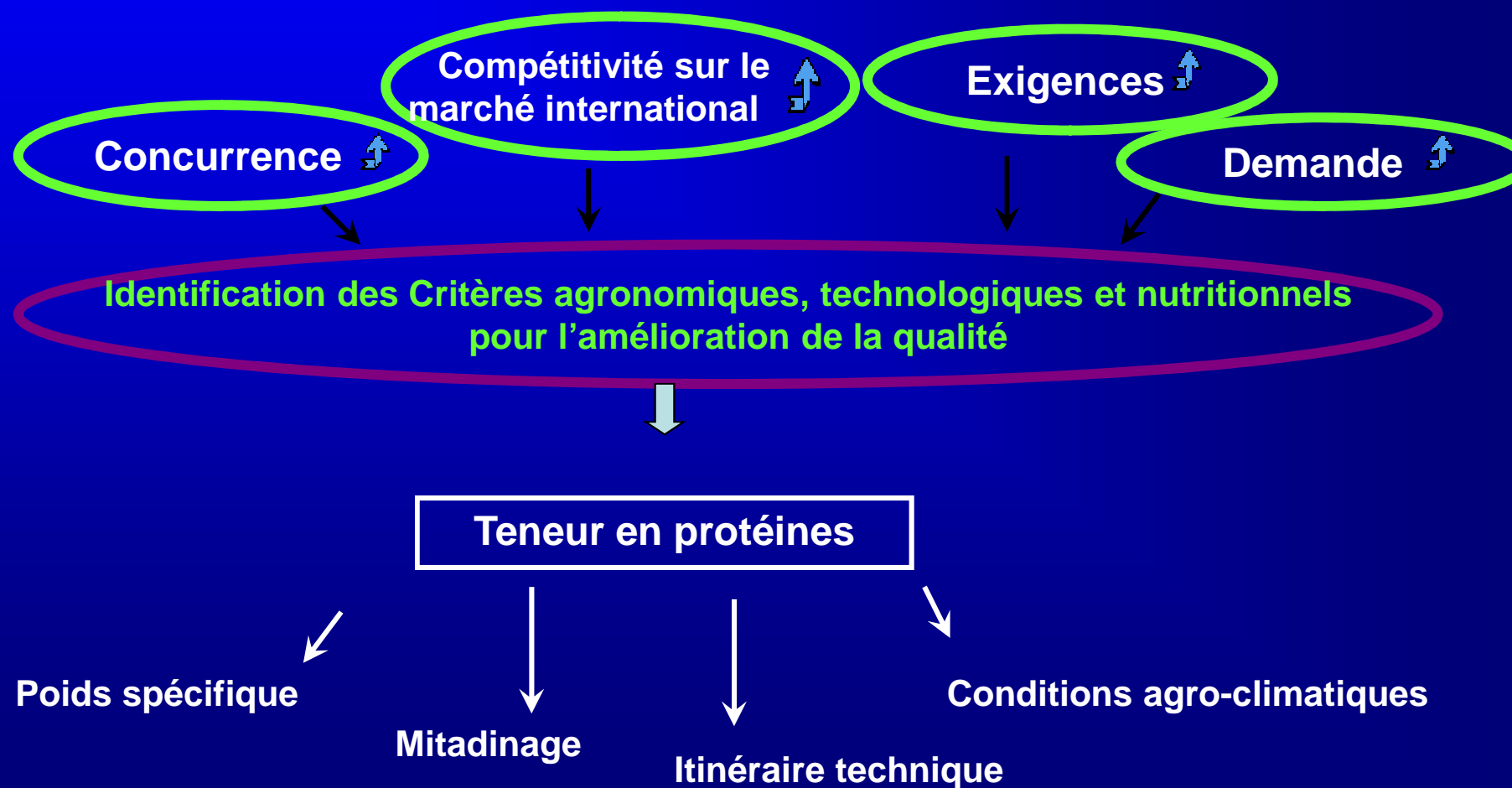
**Amélioration de la qualité technologique et
nutritionnelle du blé**

**Action 1 : Identification du polymorphisme protéique et des
caractéristiques technologiques du blé**

Action 2 : Approches d'amélioration de la qualité du blé



Action 1 : Identification du polymorphisme protéique et des caractéristiques technologiques du blé



: Identification des principales caractéristiques physico-chimiques, technologiques et nutritionnelles et étude de l'effet du mitadinage et du PS sur la qualité technologique

- Blé dur amélioré: Karim; Razzek et Khiar
- Blé dur local : Chili et Biskri
- Blé tendre amélioré : Salammbô et Byrsa
- Mélanges tunisiens (Office des Céréales)
- Mélanges importés (Office des Céréales)

Tests réalisés

Physiques

- Poids spécifique
- Poids de 1000 grains
- Impuretés
- Mitadinage (BD)

Technologiques

- Mouture d'essai
- Indice de chute
- Pigment jaune (BD)
- Alvéographe (BT)
- IS Zélény (BT)
- Panification (BT)

Chimiques

- Teneur en eau
- Cendres totales
- Protéines totales
- Gluten
- Amidon
- Fibre
- Matière grasse
- Acidité grasse

Principaux résultats

- ❑ Une nette supériorité des caractéristiques qualitatives (poids spécifiques, poids de 1000 grains, mitadinage, teneur en protéine...) des variétés tunisiennes par rapport aux mélanges importés ;
- ❑ Grande variabilité de la matière première locale avec une performance des variétés traditionnelles Chili et Biskri ;
- ❑ Les teneurs en protéines totales sont additives. Ainsi les teneurs en protéines mélanges peuvent être améliorées par des coupages d'une proportion de 1/3 de variétés locales (Chili et Biskri);
- ❑ La teneur en protéine n'est pas prise en compte dans le barème d'agrèage en vigueur, ce qui ne motive pas les producteurs de blé dur à raisonner en terme de qualité:
- ❑ Enormes fluctuations dans l'application des normes par les industriels.

Détermination du Polymorphisme Électrophorétique des sous unités des gluténines

- ❑ Karim et Razzek
- ❑ Chili et Biskri
- ❑ Salambô, Tébika, Utique, Vaga et Byrsa

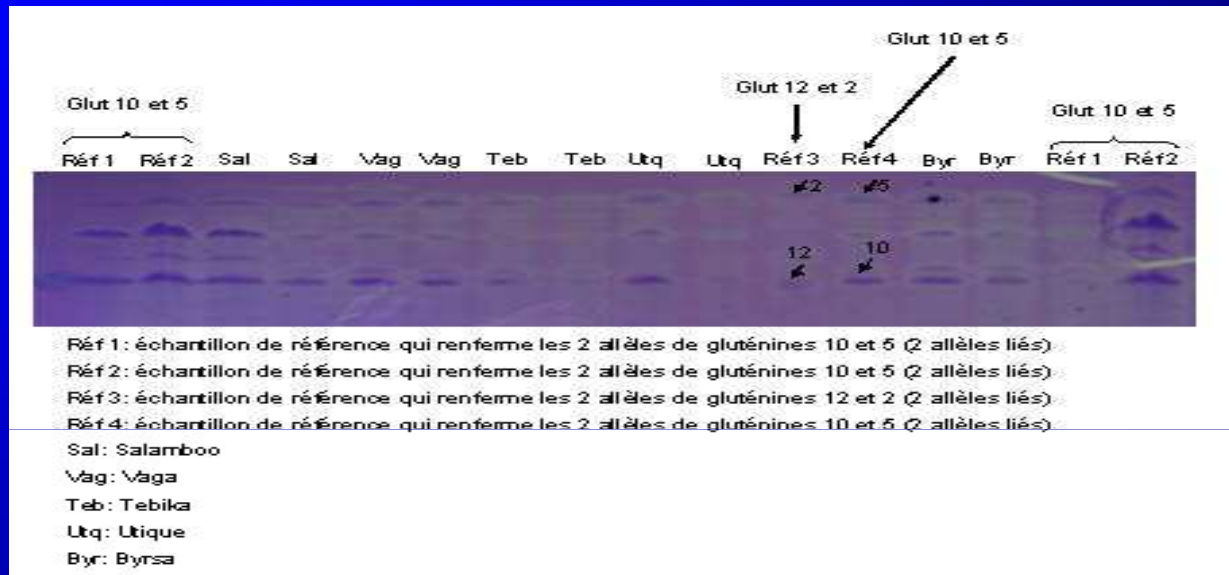
Méthode d'analyse

Electrophorèse monodimensionnelle en SDS-Page des gluténines

➔ Mise en évidence un polymorphisme protéique important



□ L'analyse du profil électrophorétique montre que les génotypes de BD renferment tous les allèles 10 et 5 et non pas l'allèle 12

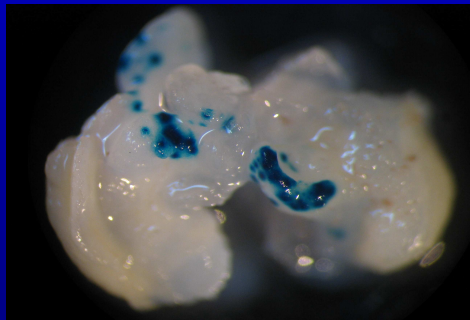


□ Analyses technologiques → Tébika (teneur en protéine la plus faible) et Byrsa (teneur en gluten la plus faible) → Retenues pour faire l'objet d'une transformation génétique dans le but d'améliorer leur teneur en protéine et leur composition en gluten.

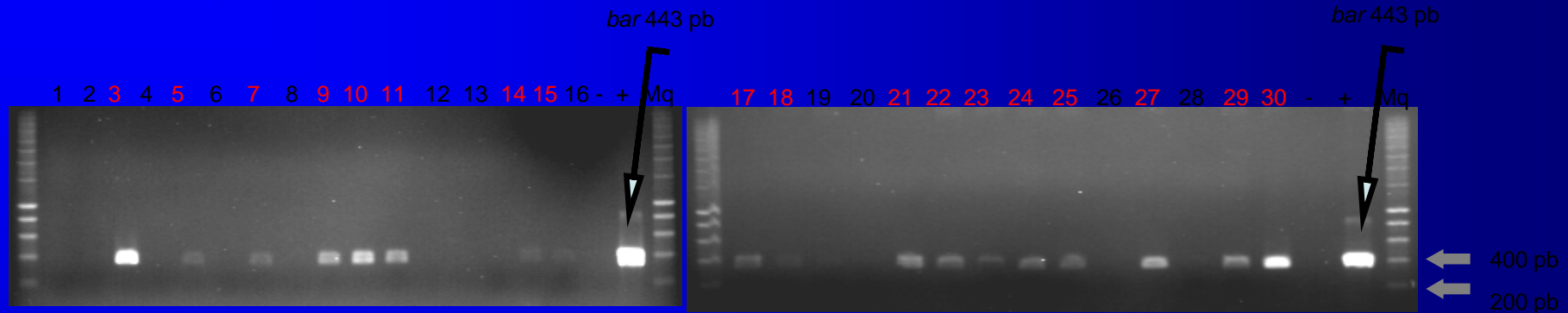
Transformation génétique par Biolistique et par *Agrobacterium* des variétés de blé dur et tendre pour l'amélioration de la qualité technologique

Blé dur : Karim, Razzek et Chili - Blé tendre : Byrsa et Tébika

- Selon le test GUS, une différence significative entre les taux d'expression transitoire du gène rapporteur *gus* pour les variétés étudiées avec supériorité de Chili → les variétés locales se prêtent bien à la transformation génétique par Biolistique et pourraient être à l'origine de la régénération des PGM de meilleure qualité technologique



Des cals exprimant le gène rapporteur *gus* trois jours après bombardement



L'amplification d'une bande de 443 pb par les amorces spécifiques Bar 25 DR pour un certain nombre de cals, démontre que ces derniers ont bien intégré le gène *bar* au niveau de leur génome

La transformation génétique du **blé tendre** par Biolistique pour l'amélioration de la qualité technologique est réalisée sur deux types de cals: des cals issus de la culture d'embryons matures et des cals issus de la culture d'ovaires non fécondés

Gynogénèse comme source d'explants → **Transgènes plus stables (gène introduit directement dupliqué avec le stock chromosomique de la plante).**

Conduite du blé dur en culture biologique pour l'amélioration de la qualité technologique

- ❑ Karim et Razzek
- ❑ Chili, Mahmoudi, Bidi, Hmira et Jenah Khotifa

Conduite de la culture en Biologique

La fertilisation adoptée : farine de poisson et 2 types de compost

1. Grignon d'olive (75%) + Fumier de volaille (25%)
2. Grignon d'olive (75%) + Fumier ovin et bovin (25%)

Analyses technologiques

- ❑ Poids spécifique (NT 51.61, 2001)
- ❑ Teneur en eau (NT 51.21, 1989)
- ❑ Protéines totales sur blé entier et sur farine par la méthode Kjeldahl (NT 51.54, 1991) et par Spectrométrie dans le proche IR
- ❑ Gluten par la méthode Gluten Index (NT 51.13, 1984) et par la méthode Manuelle
- ❑ Rendement semoulier
- ❑ Indice de chute de Hagberg (NT 51.12, 1994)

- ❑ Elaborer des « **fiches catalogue** » résumant l'essentiel des paramètres qualitatifs et nutritionnelles en corrigeant l'instabilité relative à la qualité de la matière première par des collectes par région. Ainsi, on pourra élaborer « **une carte qualité** »;
- ❑ Rendre systématique et complète l'analyse des blés importés;
- ❑ Elaborer et mettre à jour certaines normes tunisiennes;
- ❑ Intégrer les paramètres chimiques (teneur en protéines et taux de cendres) au barème d'agrèage comme mesure d'encouragement des agriculteurs ;
- ❑ Introduire les variétés locales (Chili, Biskri,...) dans les coupages à l'échelle industrielle;

- ❑ Développer une activité type « **Produits de Ferme** » et « **Produits Biologiques** » basée sur les variétés traditionnelles de blé dur à prix libre, au niveau de tous les maillons de la filière, entre l'agriculteur et le transformateur mais non approvisionnée par l'Office des Céréales en blés et dérivés compensés;
- ❑ Développer un système de **Traçabilité** pour les « produits de ferme » et « produits biologiques » et identifier les clients potentiels pour ces produits (transformateurs exportateurs, etc.).

Collaborations Nationales

- Office des Céréales
- INRGREF
- INRAT
- Laboratoire Central d'Analyse et d'Essais (Ministère de l'Industrie)
- ✓ Laboratoire de technologie des céréales (INRAT)
- ✓ Laboratoire de technologie des céréales (ESIAT)
- ✓ Centre technique de l'Agriculture Biologique (CTAB)
- ✓ Entreprises de 1^{ère} et 2^{ème} Transformations
- ✓ Minotiers
- ✓ OTD

Collaborations Internationales

- Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) - Vienne (Autriche)
- Laboratoire de Morphogenèse Végétale Haploïde, Faculté des Sciences, Université Paris Sud, Orsay - France (E. Picard et J. De Buyser)
- Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Nancy - France (M. Sibi)
- Unité de Recherche en Génomique Végétale - Equipe OEGP - INRA Evry – France (B. Chalhoub)
- Laboratoire de pathologie végétale et de biologie moléculaire de l'Université de Manitoba – Canada (Lamari Lakhdar)
- Florimond Desprez, Capelle en Pévèle, France (P. Devaux)
- Département de Biotechnologies du Centre Wallon de Recherches Agronomiques de Gembloux -Belgique (J.M. Jacquemin)
- Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux - Belgique (A. Falisse)
- Institut Supérieur Agronomique de Beauvais-France (. Th. Aussenac,)

Laboratoire de Génétique et Amélioration des Plantes
Département : Agronomie et Biotechnologie végétale

Enseignants Chercheurs permanents

DAALOUL Abderrazak

HARRABI Moncef

AMARA Hajer

HAMZA Sonia

TRIFA Youssef

HAMADA Walid

TORKI Moez

CHERIF Mejda

BESBES Raja

SLAMA Olfa

Professeur INAT

Professeur INAT / Chef du laboratoire

Maître de Conférences INAT

Maître de Conférences INAT

Maître-Assistant INAT (habilité)

Maître-Assistant INAT (habilité)

Maître-Assistant INAT

Maître-Assistante/ Doctorante INAT

Ingénieur Principal INAT

PES Détachée / Doctorante INAT/FST

14 Thèses de Doctorat

16 Mastères soutenus depuis 2001

8 Mastères en cours

5 à 6 PFE / Année Universitaire





المعهد الوطني

**MERCI POUR VOTRE
ATTENTION**

Fondé en 1898

Institut National Agronomique de Tunisie

Décembre 2006