

Analyse de la conformité génétique des porte-greffes d'agrumes des collections en Tunisie

Hager SNOUSSI¹, Marie-France DUVAL², Patrick OLLITRAULT², Rym BOUHLEL¹, François LURO³, Raphael MORILLON², Xavier PERRIER² and Jean-Pierre JACQUEMOUD-COLLET²

¹. Laboratoire d'Horticulture. Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT), Rue Hedi Karray, 1004. Tunis, Tunisie;

². UMR AGAP "Amélioration génétique et adaptation des plantes méditerranéennes et tropicales", Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Avenue Agropolis, TA A-75/02, F-34398 Montpellier Cedex 5, France;

³. Centre Inra/Cirad - San Giuliano -INRA-Corse.
Auteur Correspondant: hagersnoussi@gmail.com

RESUME

Ce travail vise: i) la caractérisation génétique des accessions de porte-greffes d'agrumes en collections de porte-greffes d'agrumes en Tunisie, ii) l'évaluation de leur homogénéité et iii) le contrôle de la conformité des Porte-greffes par rapport aux témoins de Corse. L'analyse de la conformité génétique des porte-greffes d'agrumes en collections tunisiennes a été réalisée et a permis de dévoiler une hétérogénéité au sein de certaines accessions et certains cas de non conformité par rapport aux génotypes de la collection de référence Corse. Des recommandations ont été formulées aux acteurs de la filière, constituant une valorisation immédiate au niveau du développement des actions de recherche sur la diversité des porte-greffes tunisiens.

ABSTRACT

The present work aims: i) the genetic characterization of collections accessions of Tunisian citrus rootstock, ii) their uniformity assessment and iii) rootstocks conformity check compared with controls from Corsica. Genetic conformity analysis of Citrus rootstocks in Tunisian collections was carried out and allowed to reveal an heterogeneity within certain accessions and some cases of non conformity compared with genotypes of Corsican reference collection. Recommendations were given to sector stakeholders, representing an immediate contribution, of the research actions on Tunisian rootstock diversity, to the development of the Tunisian citrus industry.

ملخص

يهدف هذا البحث الى: 1/ التحليل الجيني لعدد افراد أصول القوارص الموجودة في المجموعات التونسية المعنية بالأمر 2/ تقييم مدى تجانس أصول القوارص المكونة لهذه المجموعات 3/ مراقبة و فحص المطابقة الجينية لأصناف أصول القوارص مقارنة بالعينات الضابطة الأصل الكورسيكية. و مكنت هذه الدراسة من كشف غياب تجانس التكوين لدى عدد الأفراد و بعض الحالات التي تشكو عدم التطابق مع التراكيب الوراثية لمجموعة كورسيكا المرجعية. عدد من الإرشادات تم صياغتها لممثلي القطاع, مما يشكل وسيلة لتثمين و إستغلال هذه النتائج لتطوير خطط البحث العلمي في إطار تنوع الأصول التونسية.

PROBLÉMATIQUE

En Tunisie comme dans le monde, une des options essentielles pour l'amélioration de la productivité agrumicole à court terme est de commencer par identifier et évaluer les ressources génétiques en porte-greffes d'agrumes pour mieux les gérer. En plus de la fonction de conservation des ressources génétiques, les parcs semenciers et parcs à bois permettent la diffusion du matériel conservé aux pépiniéristes et aux cultivateurs. Il est clair que la propagation conforme des porte-greffes demeure un élément clef de la performance agronomique en verger.

Pour garantir un système de multiplication conforme des porte-greffes, il faudra s'appuyer sur la création de collections comportant des clones bien identifiés, lesquels seront propagés en filiation directe et stricte. Si la chaîne de propagation n'est pas suffisamment structurée et contrôlée, les risques de dissémination de porte-greffes qui s'avèreraient non conformes sont importants. Le souci que de tels risques soient encourus dans la chaîne de propagation des porte-greffes d'agrumes en Tunisie, nous a poussés à vérifier l'état de conformité des porte-greffes dans les principaux parcs semenciers. L'introduction de porte-greffes en collection en Tunisie ayant été réalisée par graines de génotypes partiellement apomictiques, soulève des interrogations particulières concernant leur conformité génétique, en particulier pour leur ploïdie et leur origine somatique ou zygotique. Pour cela, ce travail visait : 1/ la caractérisation génétique des accessions en collection en Tunisie, 2/ l'évaluation de l'homogénéité des collections tunisiennes et 3/ le contrôle de la conformité des Porte-greffes par rapport aux témoins de Corse.

INNOVATION

Afin de répondre à nos objectifs, le recours à des outils performants et utilisables en routine permettant la caractérisation de la ploïdie et de l'origine génétique de chaque arbre en collection était donc indispensable. A ces fins, nous avons utilisé respectivement la cytométrie en flux et des marqueurs moléculaires de type microsatellites nucléaires (SSRs). Des échantillons de feuilles ont été collectés pour les arbres présents dans les deux collections (collection du GIFruits à El Gobba (Cap-Bon) et collection du GIFruits à Sbikha). Notre travail a porté sur 160 porte-greffes de type: Mandarinier Cléopâtre, Citrange Carrizo, Bigaradier Gou Tou, *C. volkameriana*, *C. macrophylla*, Citrange Troyer, Rough Lemon, Bigaradier (tunisien), Citrumelo Swingle.

Détermination de la ploïdie des individus par cytométrie en flux: au moyen d'un cytomètre en flux (type Partec PA), la quantité d'ADN génomique par noyau de chacun des porte-greffes a été évaluée. Le kumquat a été utilisé comme témoin interne diploïde.

Analyse des loci microsatellites: Treize marqueurs microsatellites ont été utilisés (Froelicher et al. 2008; Luro et al. 2008). Ils ont été sélectionnés pour leur taux de polymorphisme sur l'échantillon génétique considéré et pour la qualité de leurs profils. Les ADN des accessions extraits ont été amplifiés par PCR à l'aide des 13 amorces microsatellites polymorphes. L'analyse des loci microsatellites a été réalisée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE) dénaturant. La majorité des échantillons se sont avérés diploïdes sauf un arbre considéré comme un Citrange Carrizo du parc de Sbikha était triploïde et 2 supposés être des Citranges Troyer du parc de l'el Gobba étaient tétraploïdes. L'analyse moléculaire a révélé plusieurs groupes plus ou moins homogènes. Cette étude a permis de vérifier la conformité des porte-greffes des collections et d'expliquer les problèmes de non-conformité. D'une manière générale l'hétérogénéité observée au sein de certaines accessions et la non conformité par rapport aux génotypes de la collection de Corse peuvent s'expliquer par (i) des problèmes de traçabilité lors de

l'introduction des accessions ou l'installation des parcelles de collection (C. Carrizo, macrophylla, volkameriana, bigaradier), (ii) la mort du greffon et la reprise du porte greffe pour certains arbres de collection (C. Carrizo, C. Troyer, volkameriana et Mandarinier Cléopâtre), (iii) la présence de plants d'origine zygotique résultant d'une introduction par graines (C. Carrizo et macrophylla).

IMPACT

L'impact pratique de ce travail est d'aider à la gestion des collections tunisiennes de porte-greffes qui sont distribués aux pépiniéristes et aux agriculteurs. Plusieurs mesures doivent être prises afin de pallier aux problèmes de non-conformité des porte-greffes à partir des collections analysées:

- systématiser la vérification de la conformité génétique des parcs semenciers existant et des futurs parcs,
- éliminer les individus triploïdes et tétraploïdes et re-greffer tous les individus qui ont présenté des reprises du bigaradier,
- confirmer l'identité exacte et l'homogénéité du matériel distribué, ce qui offre une garantie de propagation d'un bon matériel loin des mélanges, des erreurs d'étiquetage et des plants qui sont soupçonnés d'origine sexuée.
- Par ailleurs, il est nécessaire d'éliminer tous les plants douteux, et de refaire toutes les séries de porte-greffes nécessaires à partir de nouvelles introductions (*C. volkameriana* et *C. macrophylla*).

En aval de ce travail, un rapport contenant les résultats des analyses des collections et les recommandations nécessaires a été distribué aux responsables des stations pour concrétiser cette contribution à la gestion des ressources génétiques tunisiennes. Des observations morphologiques complémentaires nécessaires à l'interprétation des analyses ont pu être réalisées. D'ores et déjà des informations utiles à la gestion des ressources génétiques et des parcs à bois ont pu être apportées au niveau du GIFruits, en particulier à Sbikha où quelques problèmes de conformité pourront être résolus simplement (surgreffage d'un arbre, élimination des *Citrus volkameriana* non conformes au type d'origine). A court terme, le contrôle de la conformité génétique des collections de porte-greffes, offrira une garantie sur les arbres-mères des schémas de multiplication des porte-greffes. Cette garantie assurera la conformité du matériel planté et l'homogénéité du comportement agronomique.

REMERCIEMENTS

- Zina Belfalah (Laboratoire d'Horticulture, INRAT, Tunisie).
- Asma Najar (Laboratoire de Protection des Végétaux, INRAT, Tunisie)
- Patrick Ollitrault, Marie-France Duval, Raphael Morillon, Xavier Perrier (l'UMR AGAP, CIRAD, France).
- Yann Froelicher et François Luro: Centre Inra/Cirad - San Giuliano -INRA-Corse.
- Feu Mohamed Cherif, Mehdi Mabrouk, Nabiha Metoui (Centre Technique des Agrumes, Tunisie).
- GIFruits, Groupement Interprofessionnel des Fruits, Tunisie
- Les responsables des parcs semenciers GIFruits de Sbikha (Gouvernorat de Kairouan) et d'El Gobba (Gouvernorat de Nabeul), Tunisie.

REFERENCES

Froelicher Y. et al. 2008. Characterization of microsatellite markers in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco). Molecular Ecology Resources.8(1): 119-122.

- Luro F. *et al.* 2008. Transferability of the EST-SSRs developed on Nules clementine (*Citrus clementina* Hort ex Tan) to other *Citrus* species and their effectiveness for genetic mapping. BMC Genomics. 9:287. doi:10.1186/1471-2164-9-287