



Wallonie

# Recherche de lignées aromatiques d'*Abies* par hybridation somatique

Convention Région Wallonne D31-1239

**Centre Wallon de Recherches Agronomiques**

Département Biotechnologie

Inspecteur général scientifique Philippe Druart

et

**Gembloux Agro-Bio Tech**

Unité de Chimie Générale et Organique

Professeur Marie-Laure Fauconnier

**Objectif du projet d'étude : créer une lignée d'*Abies* aromatique qui associera les propriétés de croissance reconnues à l'espèce *A. nordmanniana* aux propriétés aromatiques d'*A. balsamea*, en utilisant des lignées embryogènes capables de régénérer des plantes entières.**

**Trois axes de recherche :**

- hybridation somatique à partir de protoplastes (CRA-W)**
- détermination des profils aromatiques comme moyen de criblage (GxABT)**
- régénération des hybrides somatiques (CRA-W)**

# Détermination des profils aromatiques comme moyen de criblage (GxABT)

## Techniques d'analyse

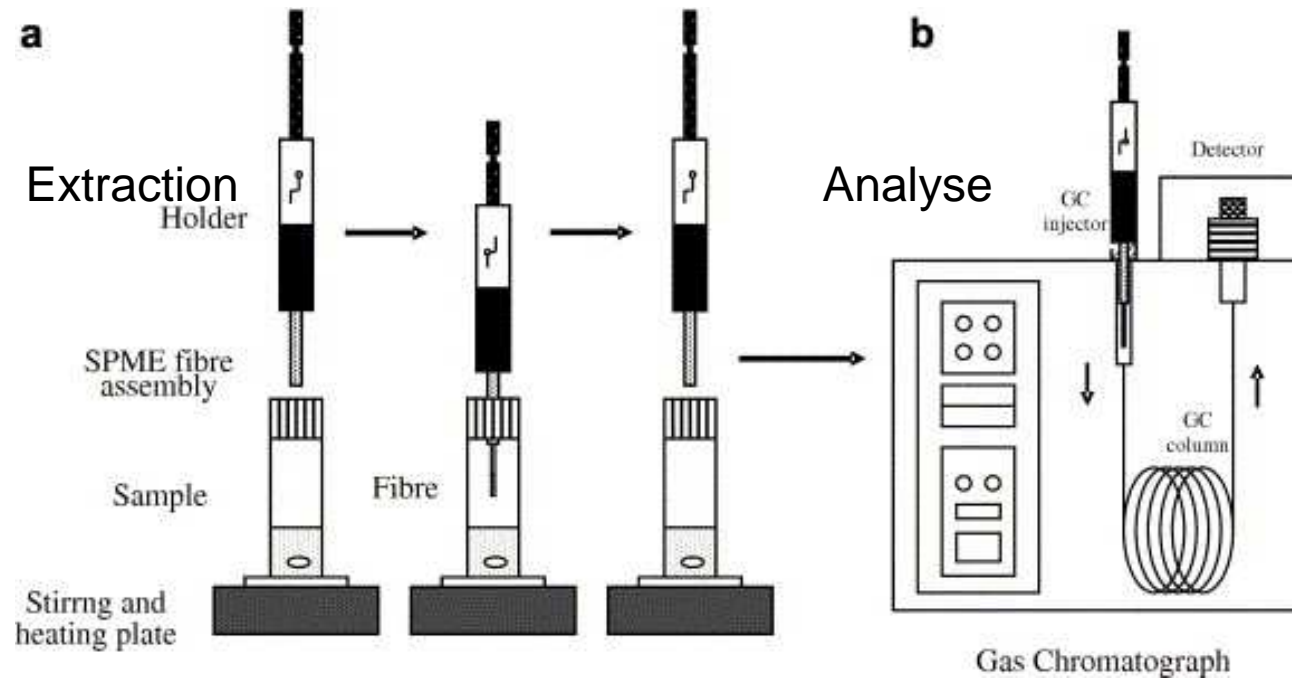
### Préparation de l'échantillon

- Solid Phase Micro-Extraction (SPME)
- Dynamic Headspace Sampler (DHS) – Thermal Desorption Unit (TDU)

### Analyse: GC-MS/FID

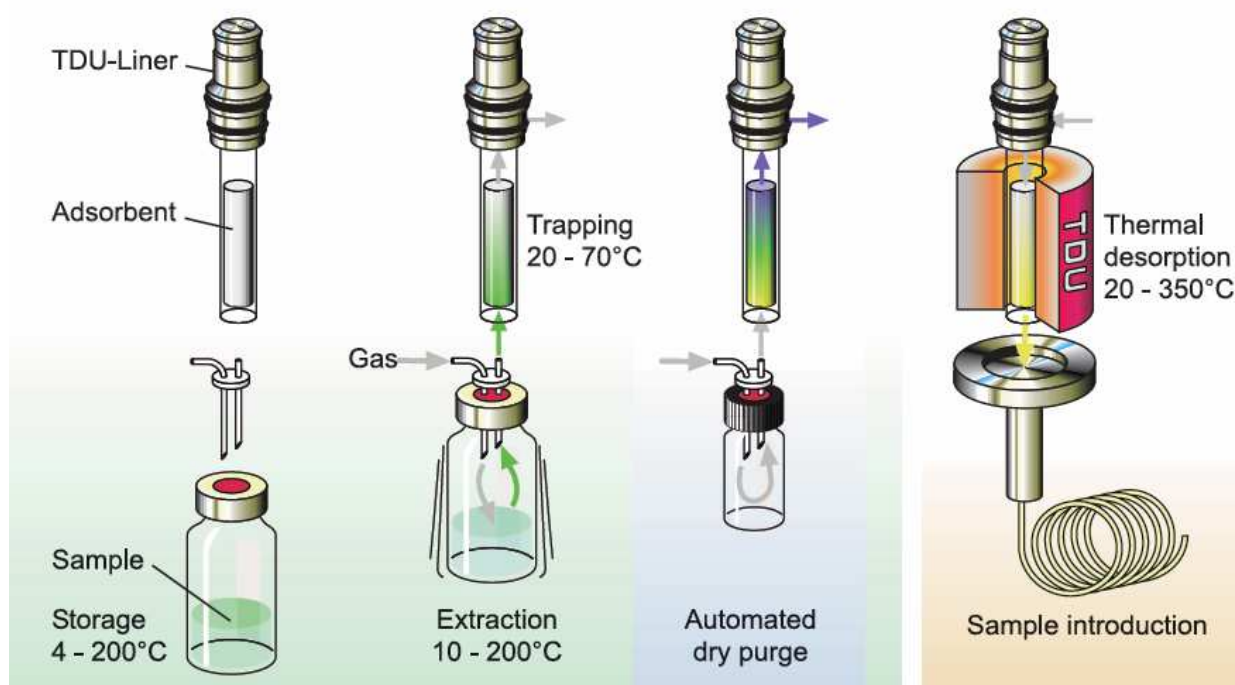


# Solid Phase MicroExtraction (SPME)



# Dynamic Headspace Sampler (DHS)

The DHS process from extraction to sample introduction



## **Différents axes de recherche au niveau de la détermination des profils aromatiques :**

### **- Etude des composés volatils émis**

- **par des aiguilles d'Abies de différentes espèces**
- **par des graines d'Abies de différentes espèces et origines afin de les distinguer de manière non-destructive.**
- **par des masses embryogènes cultivées au département Biotechnologie du CRA-W**

# **Etude des composés volatils émis par des aiguilles d'Abies d'espèces différentes**

**Etude réalisée afin de différencier au niveau du profil aromatique deux espèces d'Abies (*Abies nordmanniana* et *Abies balsamea*).**

**Etude exercée sur une période d'une année sur 2 espèces différentes et 2 âges différents.**

## **Conditions opératoires SPME**

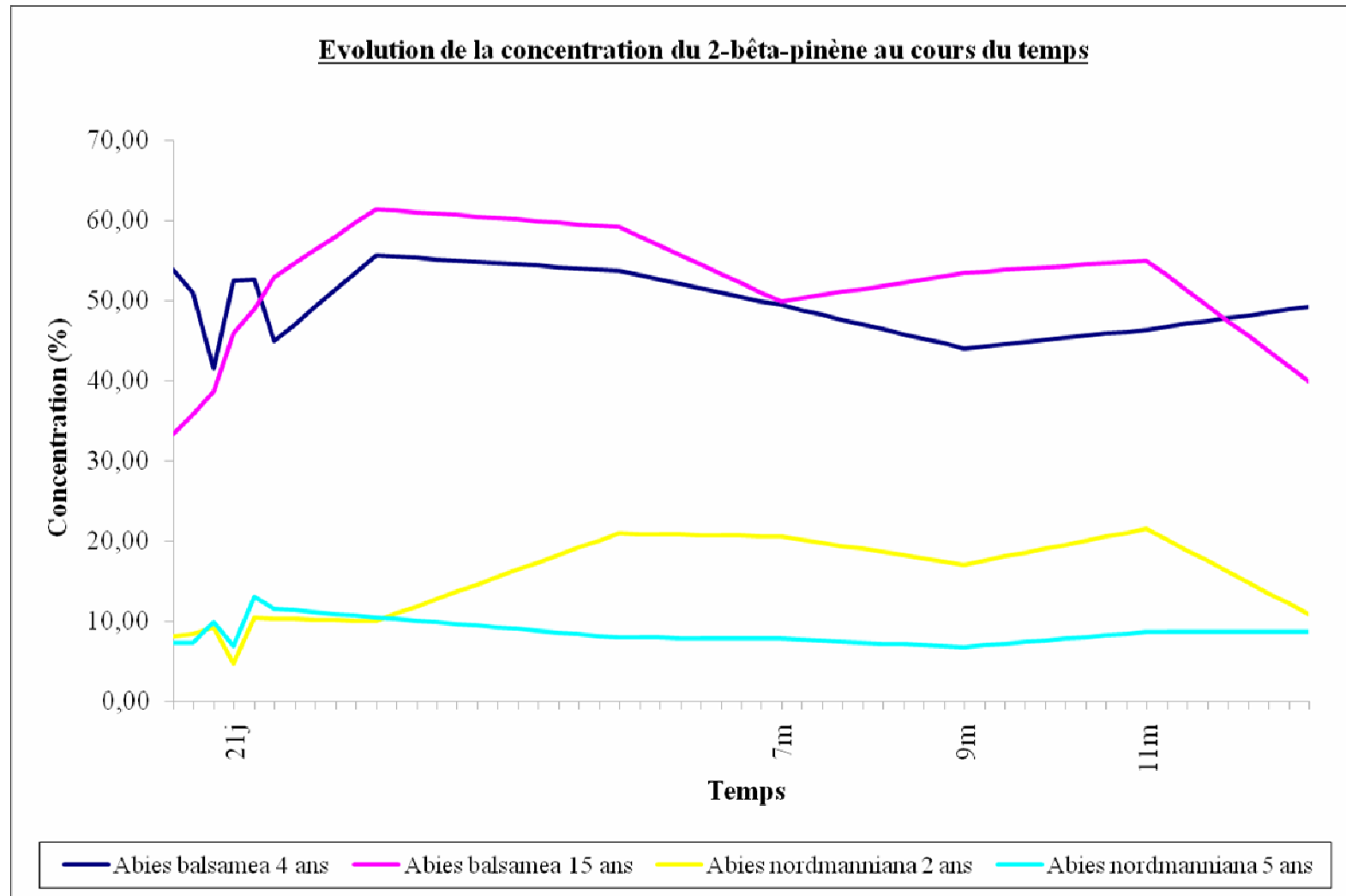
**Prise d'échantillon : 500 mg de graines**

**Température d'équilibrage : 30° C**

**Temps d'équilibrage : 5 min**

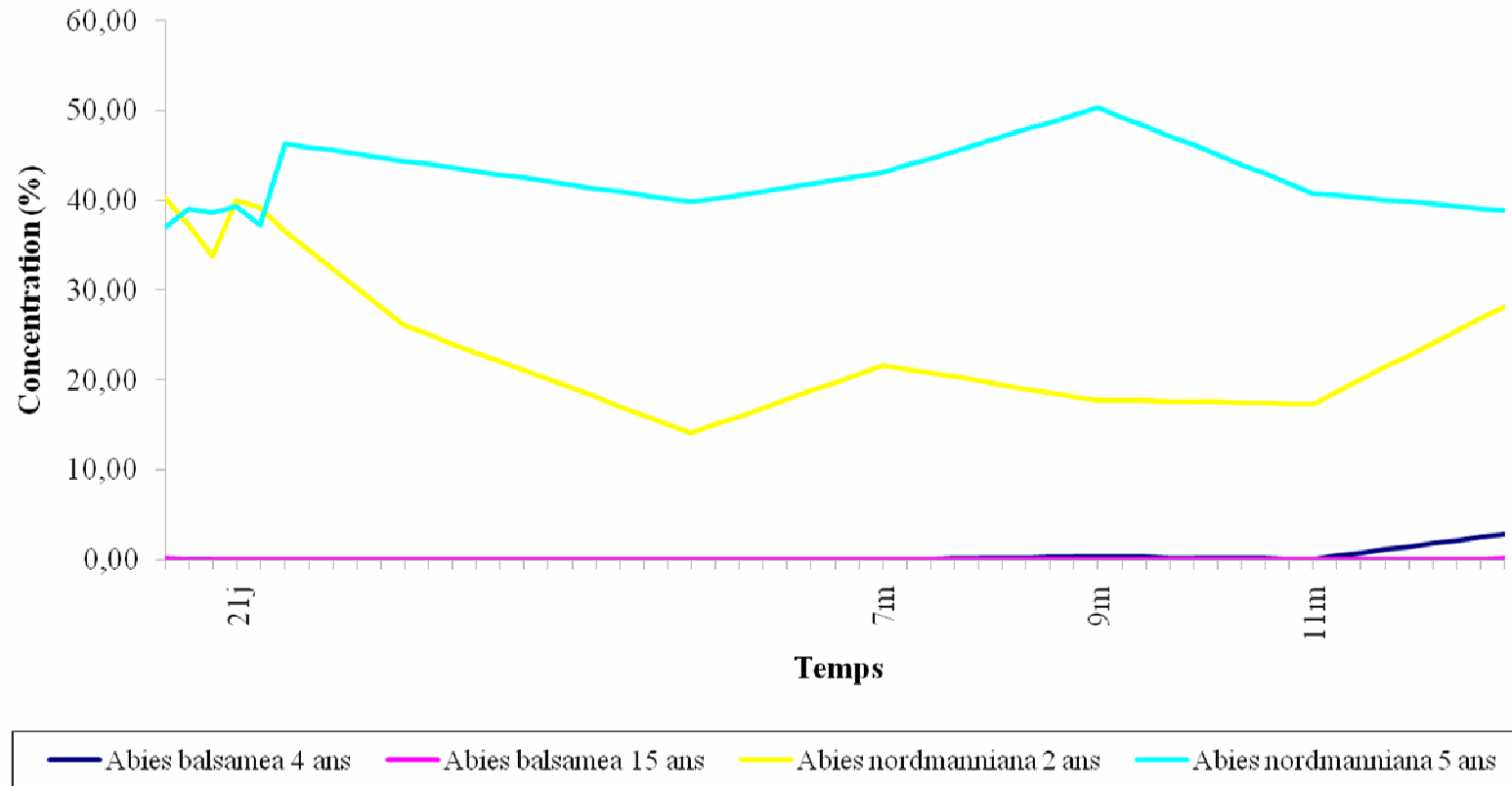
**Temps de prélèvement : 15 secondes**

**L'intensité de 2 molécules émises par les aiguilles d'Abies nous permet de différencier les 2 espèces : le 2-bêta-pinène et le delta-3-carène**





### Evolution de la concentration du delta-3-carène



# Etude des composés volatils émis par des graines entières d'Abies d'espèces et de souches différentes

La méthode d'analyse est non destructive et est donc favorable pour les commerçants

## Conditions opératoires SPME

Prise d'échantillon : 200 mg de graines

Température d'équilibrage : 30° C

Temps d'équilibrage : 5 min

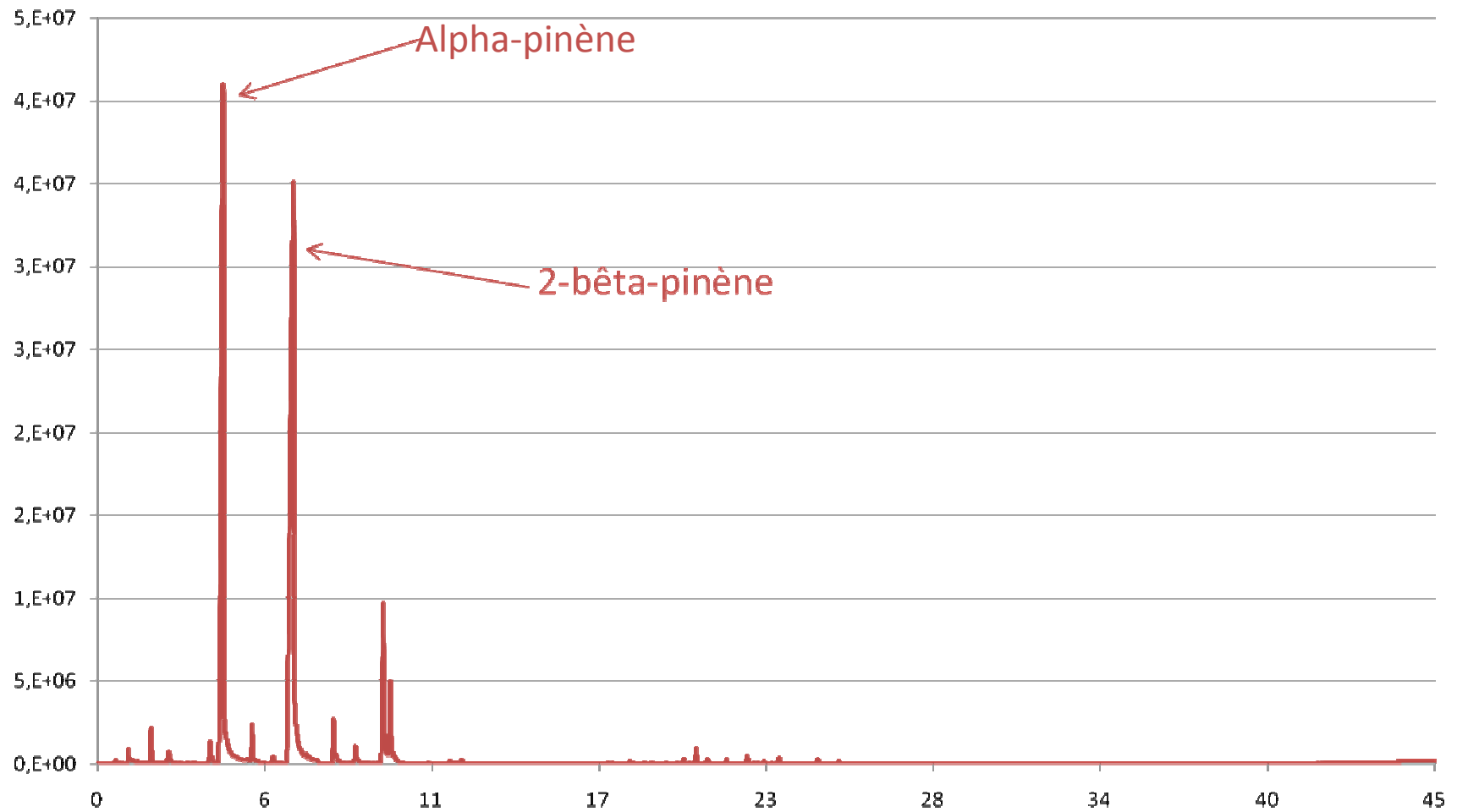
Temps de prélèvement : 15 secondes



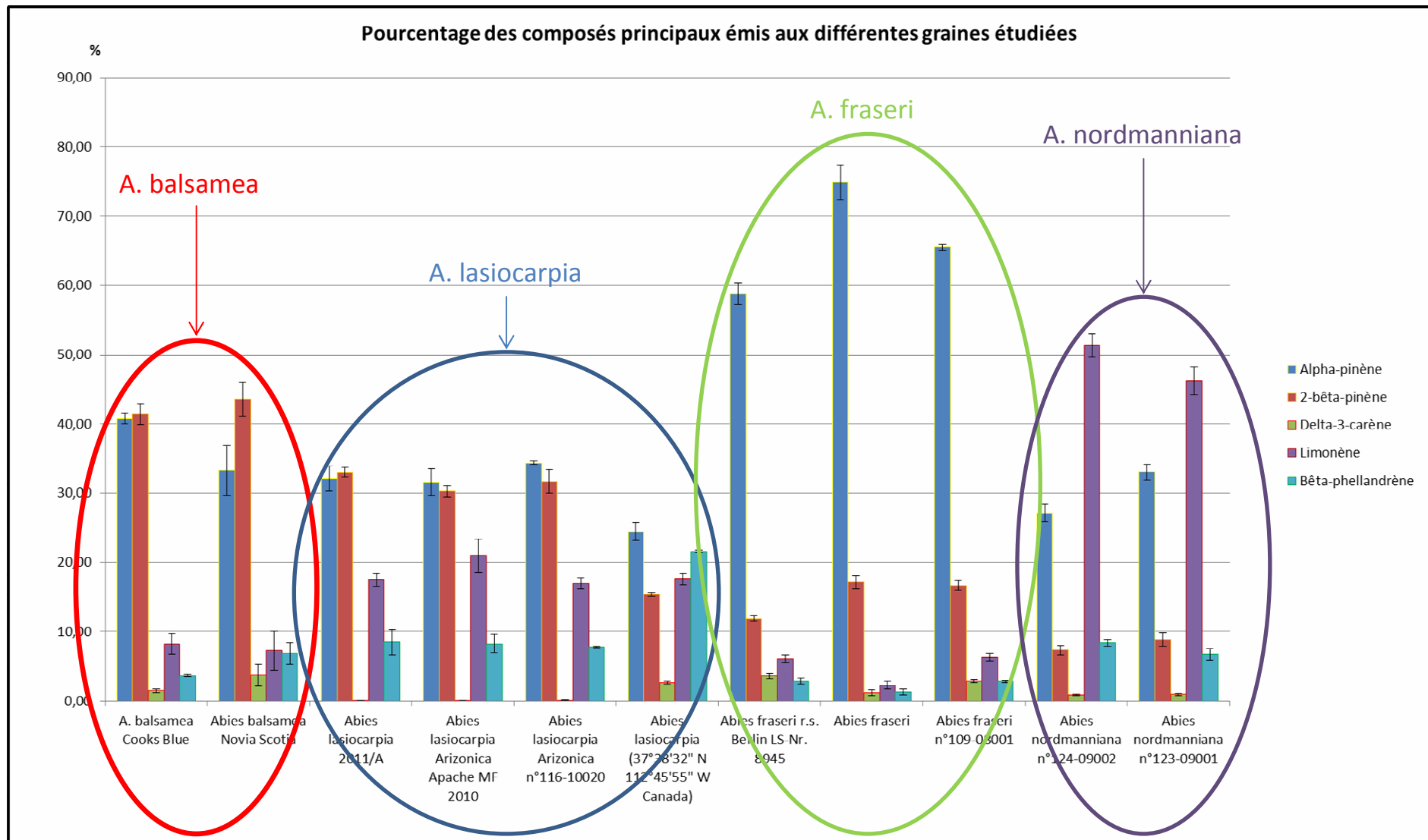
**Exemple des pourcentages des composés volatils émis par des graines d'*Abies balsamea***

R.T.	Nom	200 mg de graine			Moyenne	(σ)	CV
		A	B	C			
3,91	Tricyclène	0,05	0,07	0,05	0,06	0,02	0,27
4,32	Alpha-pinène	29,82	33,12	37,01	33,32	3,6	0,11
5,2	Alpha-fenchène	0,1	0,06	0,14	0,1	0,04	0,44
5,38	Camphène	1,39	0,85	1,08	1,11	0,27	0,25
6,09	Hexanal	0,2	0,06	0,03	0,1	0,09	0,93
6,71	2-bêta-pinène	45,17	40,74	44,83	43,58	2,46	0,06
7,185	Sabinène	0,48	0,32	0,51	0,44	0,1	0,23
8,17	Delta-3-carène	3,76	5,38	2,1	3,74	1,64	0,44
8,68	Alpha-phellandrène	0,15	0,07	0,12	0,11	0,04	0,36
8,88	Bêta-myrcène	0,85	0,66	1,04	0,85	0,19	0,22
9,18	Alpha-terpinène	0,05	0,03	0,03	0,04	0,01	0,3
9,81	Limonène	6,95	10,16	4,54	7,22	2,82	0,39
10,07	Bêta-phellandrène	8,56	5,61	6,44	6,87	1,52	0,22
11,35	Gamma-terpinène	0,05	0,04	0,04	0,04	0,01	0,14
11,69	Styrène	0,01	0,01	0	0,01	0	0,26
12,11	Cymène	0,35	0,31	0,26	0,31	0,04	0,14
12,49	Alpha-terpinolène	0,24	0,25	0,16	0,22	0,05	0,21
15,6	Fenchone	0	0	0	0	0	0,3
15,76	Nonanal	0,01	0,01	0	0,01	0	0,52
16,3	Alpha-thujone	0,03	0,04	0,01	0,03	0,01	0,49
18,27	Alpha-copaene	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,29
18,67	Camphre	0,03	0,03	0,03	0,03	0	0,03
19,8	Linalool	0,01	0,01	0	0	0	0,3
20,03	Pinocarvone	0,35	0,37	0,23	0,32	0,07	0,22
20,45	Acétate de bornyl	0,42	0,54	0,41	0,46	0,08	0,16
20,81	Caryophyllène	0,11	0,2	0,22	0,18	0,06	0,31
21,48	Myrtenal	0,18	0,18	0,1	0,15	0,04	0,28
22,2	Trans-pinocarveol	0,22	0,24	0,13	0,2	0,06	0,31
22,5	Alpha-humulene	0,03	0,06	0,07	0,05	0,02	0,43
22,61	Estragole	0	0	0	0	0	0,53
22,75	?	0,09	0,08	0,05	0,07	0,02	0,28
23,01	Alpha-amorphene	0,01	0,02	0,01	0,01	0	0,29
23,21	Verbenone?	0,09	0,1	0,06	0,08	0,02	0,24
23,28	Borneol	0,07	0,09	0,1	0,09	0,02	0,18
23,41	Germacrene-D	0,01	0,01	0,01	0,01	0	0,28
23,84	Alpha-muurolene	0,01	0,01	0,01	0,01	0	0,28
23,93	Beta-bisabolene	0,01	0,01	0	0,01	0	0,27
24,57	Delta-cadinene	0,09	0,16	0,09	0,11	0,04	0,35
25,3	Myrtenol	0,06	0,07	0,04	0,05	0,02	0,3
26,74	Guaiacol	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,37

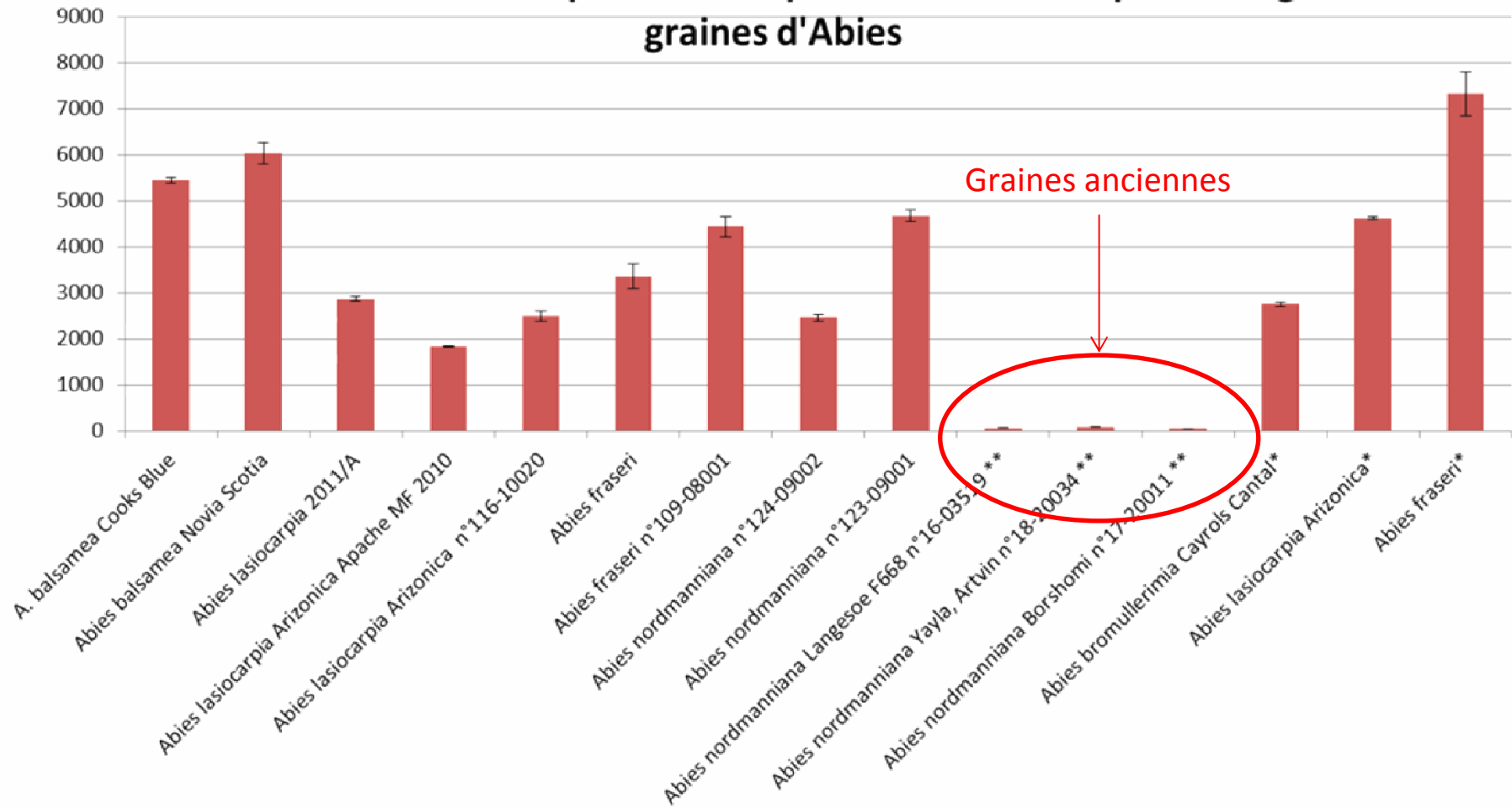
## Exemple d'un chromatogramme de composés volatils émis par des graines d'*Abies balsamea*



# Continuation de la constitution d'une bibliothèque de référence des composés volatils émis par des graines de différentes espèces d'*Abies*



## Somme des aires des pics des composés volatils émis par 200mg de graines d'Abies



# **Etude des composés volatils émis par des masses embryogènes d'Abies d'espèces et de souches différentes**

**Cette étude est effectuée afin de différencier les différentes espèces d'Abies et de vérifier par la suite le bon fonctionnement de la fusion somatique entre les différentes espèces**

## **Conditions opératoires TDU et de prélèvements**

**Temps de prélèvement : 4h.**

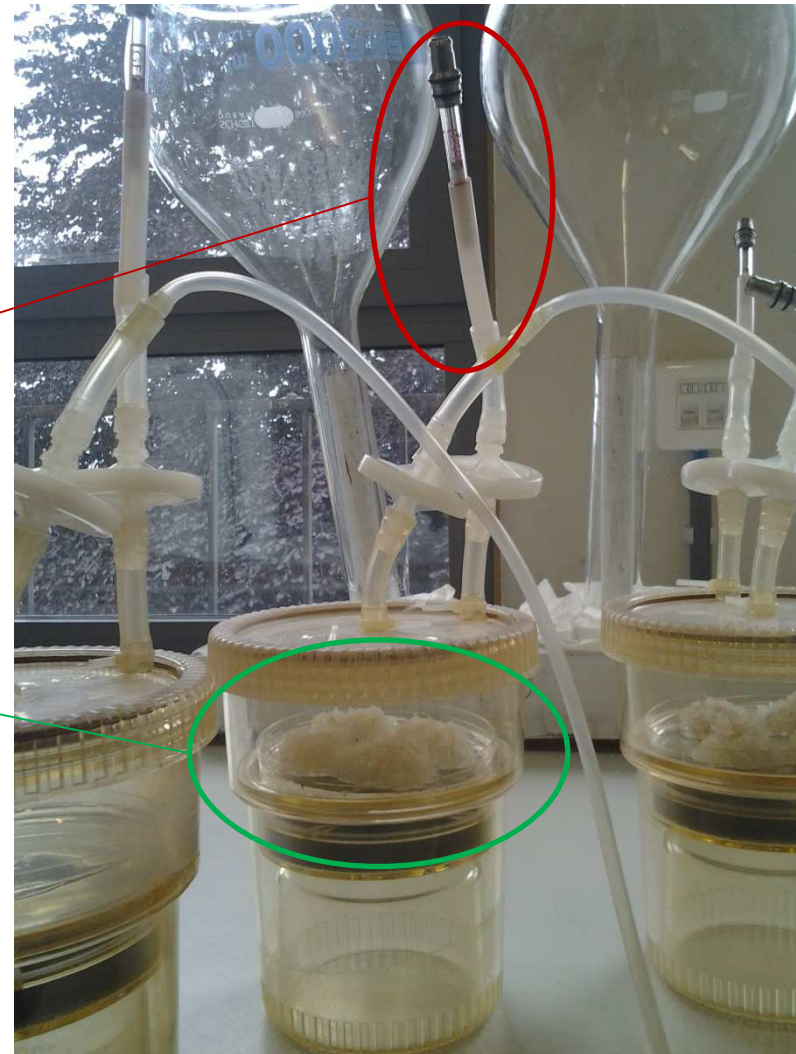
**Programme de température du TDU : 30°C pendant 0.2 min suivi d'une augmentation de la température de 60°C/min jusque 260°C maintenu pendant 5 minutes.**

**Programme de température de l'injecteur (CIS) : -100°C pendant 0.2 min suivi d'une augmentation de la température de 12°C/min jusque 260°C maintenu pendant 5 minutes.**

**Dispositif de captage de composés volatils émis par des masses embryogènes en milieu stérile**

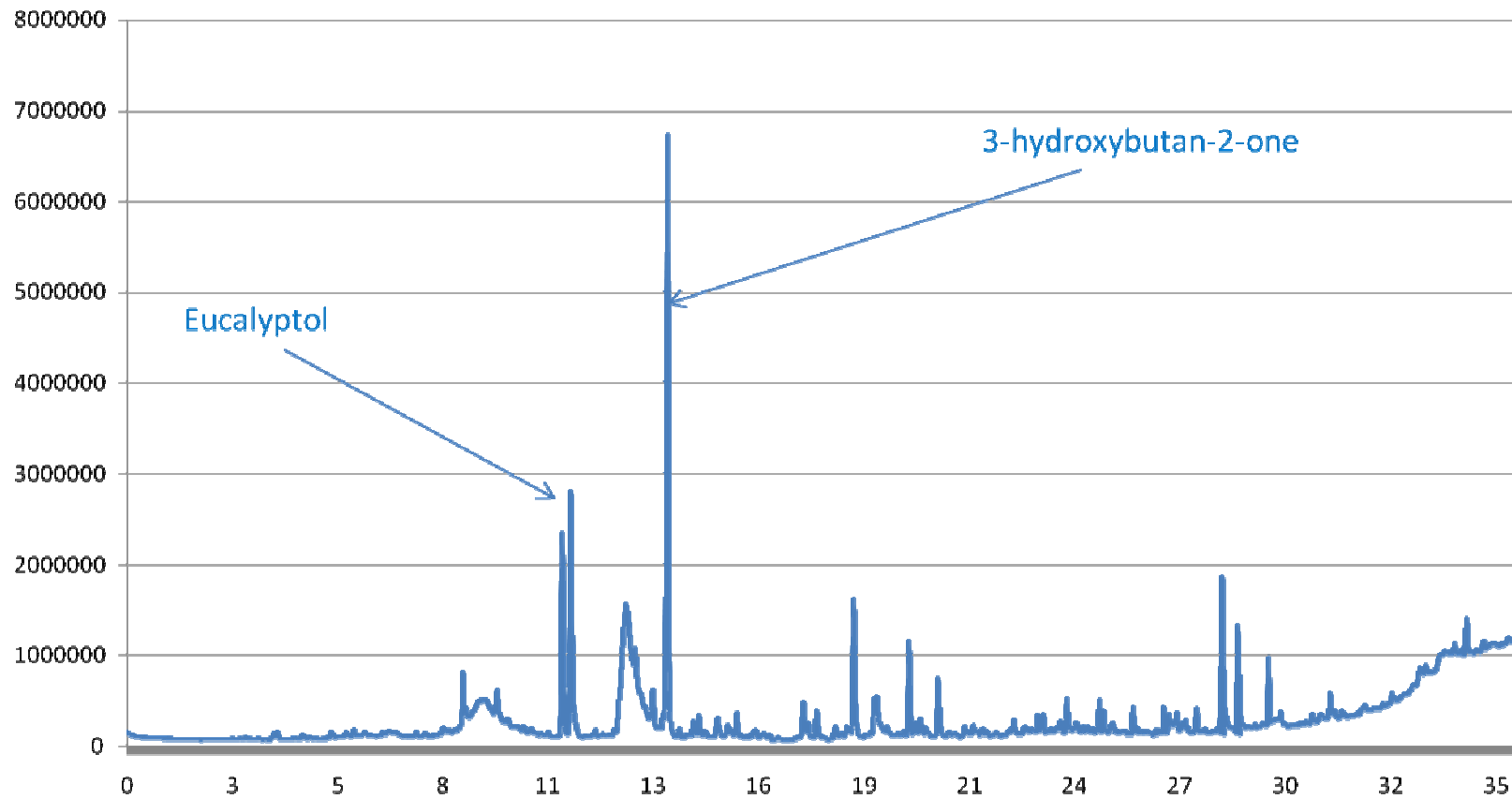
Cartouche d'absorbant

Masses embryogènes  
d'*Abies nordmanniana*

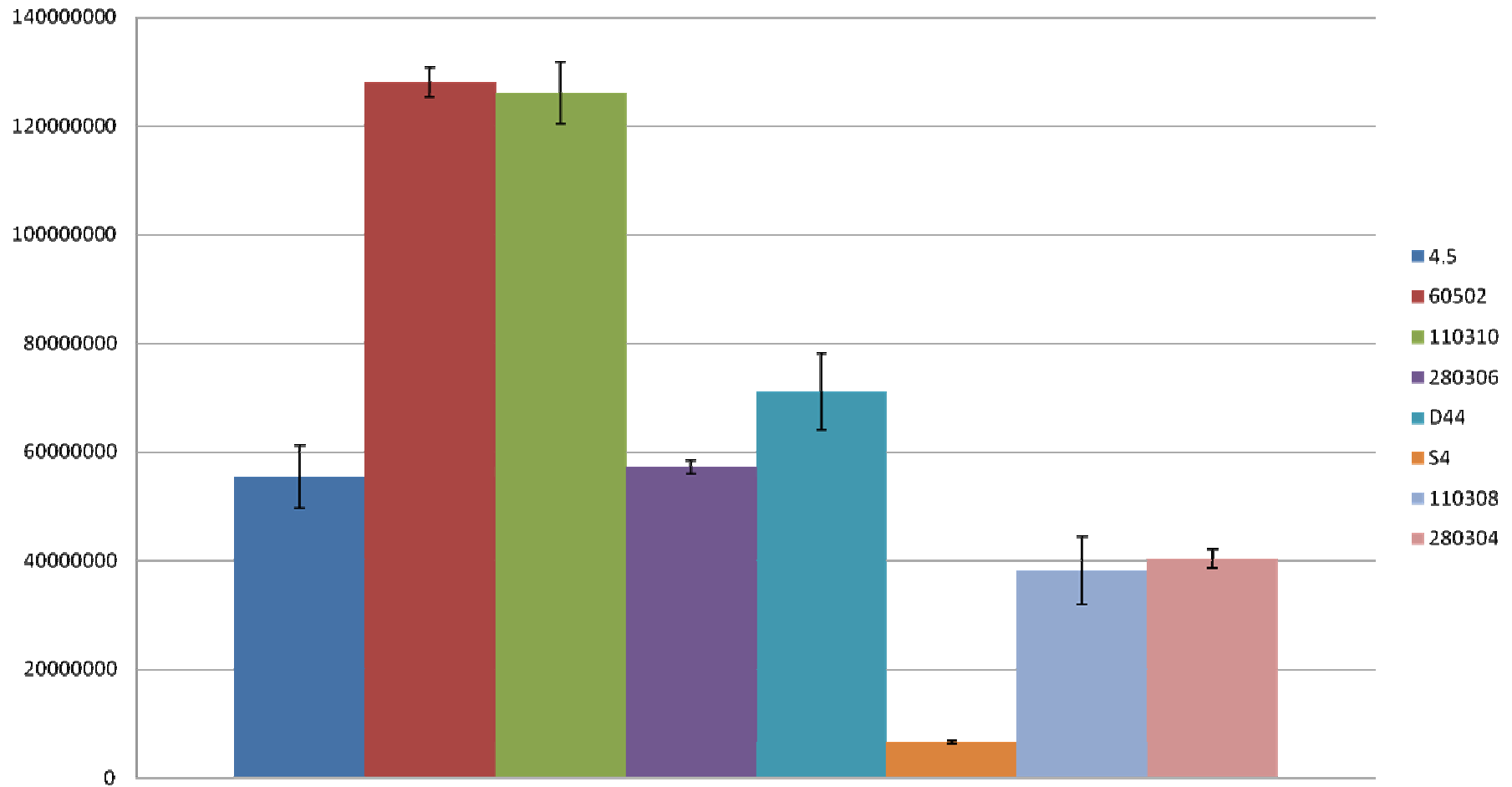




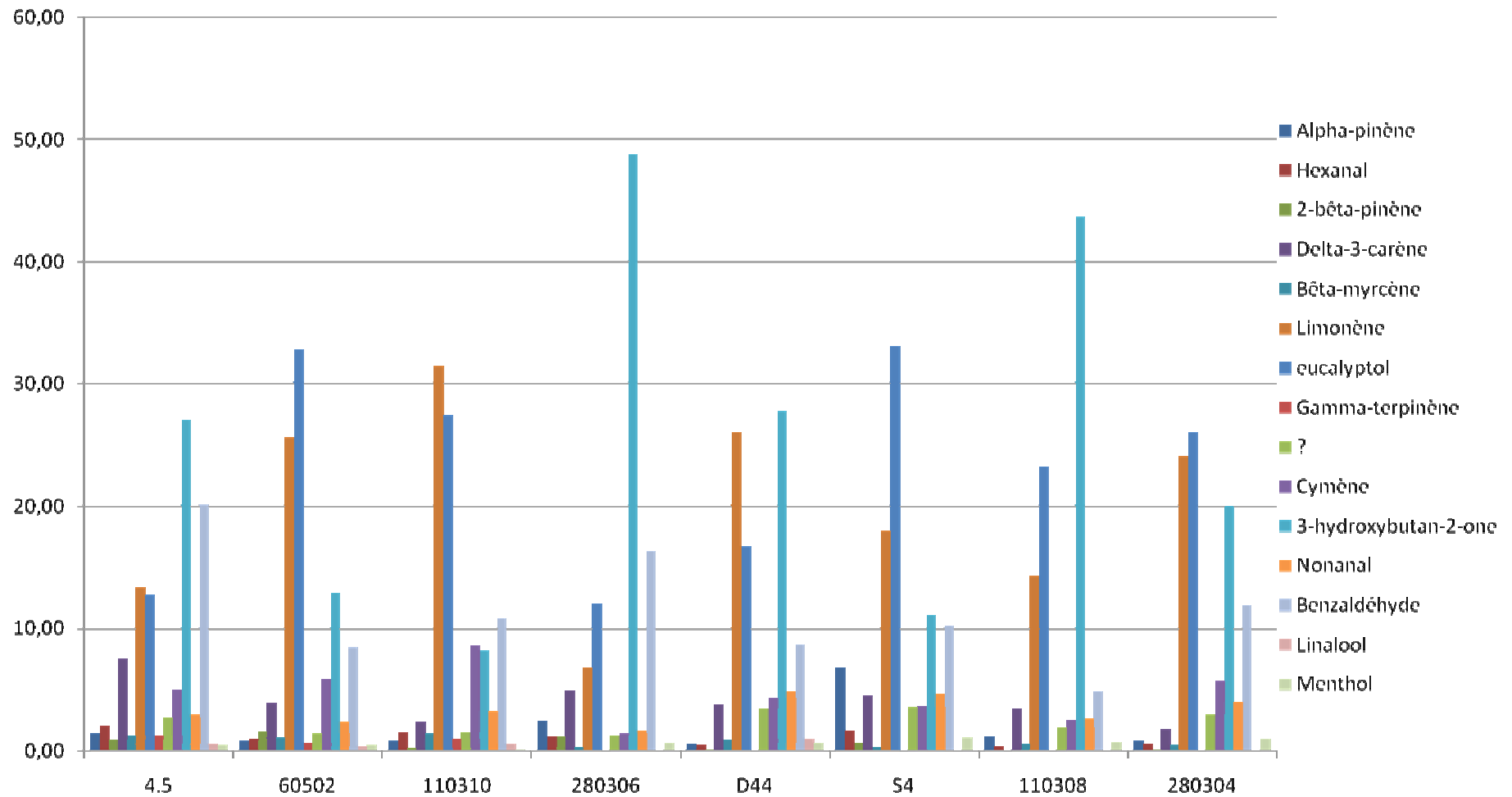
**Exemple d'un chromatogramme de composés volatils  
émis par des masses embryogènes d'*Abies  
nordmanniana***



## Comparaison de la quantité totale des composés volatils émis par des masses embryogènes de différentes d'*Abies nordmanniana* en milieu stérile



## Pourcentages de composés volatils émis par des masses embryogènes d'*Abies nordmanniana* de souches différentes



## Conclusion

**La méthode d'analyse des composés volatils émis par des graines d'*Abies* est applicable au commerce des graines en vue de vérifier la fraîcheur de celles-ci. Une bibliothèque de profils aromatiques de référence des graines d'*Abies* est en cours d'exécution afin de pouvoir distinguer les différentes origines des graines.**

**Cette méthode est appliquée aussi pour l'étude du profil aromatique des masses embryogènes en milieu stérile comme moyen de criblage lorsque la fusion somatique sera réalisée au CRA-W.**