

JOURNAL OF OASIS AGRICULTURE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT

www.joasdjournal.com



p-ISSN: 2724 – 699X
e-ISSN: 2724-7007

Les études moléculaires sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) : Article de synthèse.

Molecular studies on the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): A review.

Hamza Hammadi* & Ferchichi Ali

Laboratoire de l'aridoculture et cultures oasiennes, Institut des régions arides, Médenine 4119, Tunisie.

Article info

Reçu : 17 Septembre 2020
Accepté : 25 Octobre 2020

Mots clés : Palmier dattier, Moléculaire, Génomique, Post-génomique.

* Auteur correspondant
hamzapalmier@yahoo.fr

Article info

Received : 17 September 2020
Accepted : 25 October 2020

Keywords: Date palm, Molecular, Genomic, Post-genomic.



Copyright©2020 JOASD

* Corresponding author
hamzapalmier@yahoo.fr

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest

Résumé

Le palmier dattier possède certaines caractéristiques qui en font des organismes difficiles à étudier pour la localisation et l'identification des gènes. L'amélioration de la productivité, la qualité du fruit et la résistance aux stress biotiques et abiotiques est le principal objectif des analyses moléculaires chez le palmier dattier. Dans ce papier, nous examinons les progrès considérables dans ce domaine et leur état. On a passé en revue les progrès des études de la génomique chez le palmier dattier afin de fournir une référence utile aux chercheurs travaillant dans ce domaine. Le progrès des techniques moléculaires facilitera les programmes d'amélioration au moyen de la sélection moléculaire

Abstract

The date palm has some characteristics that make it difficult to study for genes location and identification. Improving productivity, fruit quality and resistance to biotic and abiotic stresses is the main objective of molecular analyzes in date palm. In this paper, we examine the considerable progress in this area. Progress in date palm genomics studies was reviewed to provide a useful reference for researchers working in this area. Advances in molecular techniques will facilitate improvement programs using molecular selection.

1. INTRODUCTION

Les oasis sont des espaces intensivement cultivés dans les milieux arides et semi arides où les éléments du climat sont modifiés. Elles se caractérisent par des étages de cultures qui se sont développées avec le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). L'adaptation du palmier dattier à certains stress abiotiques (thermique, salinité) a permis de le considérer comme l'un des principaux arbres fruitiers les plus répandus et mis en culture dans les régions arides. Plus de 5000 variétés sont actuellement cultivées tout autour du monde (Jaradat & Zaid, 2004). La plupart sont sélectionnées par les agriculteurs à

travers le temps sur la base de deux critères principaux : le rendement et la qualité des fruits. Ces cultivars sont couramment identifiés par une large gamme de critères morphologiques décrivant les arbres et les fruits (Nixon, 1950 ; Zaid & de Wet, 2002 ; Elhoumaizi et al., 2002 ; Osman, 2001 ; Rhouma, 2005).

Les oasis se caractérisent par une large répartition géographique. La distribution des cultivars est fortement liée aux conditions édapho-climatiques, à l'ancienneté de cette culture et aux exigences du marché. Le secteur phoenicole est un patrimoine génétique d'une importante richesse, mais qui se trouve sous l'influence de différentes contraintes écologiques

et socio-économiques. Des problèmes phytosanitaires ont été notés principalement la menace du Bayoud, qui a fait beaucoup de dégâts en Algérie et au Maroc (Louvet & Toutain, 1973; Baaziz, 2000) où il a provoqué la destruction de plus de 15 millions de pieds. Plusieurs autres maladies ont été notées et sont de nature fongique ou causées par des insectes. L'apparition de la maladie des feuilles cassantes (MFC) présente également certains risques pour les variétés les plus commercialisées (Namsi et al., 2005). Les anciennes oasis qualifiées de traditionnelles, foyer de la richesse phoenicicole (Hamza et al., 2006), sont menacées d'une érosion pour son vieillissement et son abandon relatif à son morcellement et à la pénurie de la main d'œuvre. Par opposition on a noté une tendance illimitée vers la création de nouvelles oasis (privées et publiques) plus rentable dans lesquelles la phoeniculture est pratiquée d'une façon intensive basée sur la monoculture de la variété 'Deglet Noir'.

Actuellement certains cultivars sont en voie de disparition et d'un rythme inquiétant (Ferchichi & Hamza, 2008), ce qui menace le système oasien d'une érosion génétique avec toutes ses potentialités d'adaptation, de résistance et de production. Cet écosystème oasien étant un réservoir de diversité biologique fragile doit être géré avec beaucoup de précautions. La conservation de la biodiversité représente à nos jours une grande nécessité du fait son importance dans le développement socio-économique du monde entier. Des programmes de sauvegarde et de conservation du patrimoine phoenicicole oasien ont été adoptés en vue de sauvegarder ce patrimoine. L'obtention des informations suffisantes sur l'ampleur et les caractéristiques de la diversité génétique, la différenciation des populations et la compréhension des relations génétiques entre les individus et les populations sont essentielles pour établir des lignes directrices sur l'utilisation et la conservation des ressources génétiques d'une espèce, surtout quand les stress biotiques et abiotiques sont considérés (Bradshaw, 1975 ; Bates, 1985 ; Namkoong, 1989 ; Frankel et al., 1995 ; Virchow 1999). Plusieurs stratégies doivent être adoptées davantage pour assurer la conservation et l'utilisation durable des ressources phoenicoles pour l'intérêt des générations présentes et futures. Une compréhension de ce système et sa diversité génétique est une exigence.

Les programmes de conservation et d'amélioration doivent commencer par une évaluation approfondie du secteur pour améliorer les connaissances pratiques de conservation et fournir l'information nécessaire pour faciliter la gestion du patrimoine dattier. Dans cette revue, nous soulignons les principaux travaux moléculaires de caractérisation du *Phoenix dactylifera*, y compris les études utilisant des technologies de l'analyse des données génomiques.

2. LES CARACTERISTIQUES D'UN BON MARQUEUR MOLECULAIRE

Un marqueur moléculaire est un locus génétique qui renseigne sur le génotype de l'individu ou sur le génotype des locus voisins. Le principal intérêt des marqueurs moléculaires est leur insensibilité au milieu, c'est-à-dire que le génotype peut être inféré à partir du phénotype, quelles que soient les conditions environnementales.

Il existe plusieurs types de marqueurs que l'on peut classer en fonction du polymorphisme qu'ils détectent. Certaines techniques ont l'avantage de révéler de nombreux fragments simultanément, ce sont des techniques de révélation «en masse» de polymorphisme. Il existe aussi des stratégies permettant de détecter du polymorphisme de façon individuelle, elles nécessitent une certaine connaissance de la séquence d'ADN. Bretting & Widrlechner (1995) définissent les caractéristiques idéales d'un marqueur moléculaire : un bon marqueur doit être un caractère Mendélien à hérédité simple, spécifique d'un locus, à plusieurs allèles, bien dispersé le long du génome, codominant, sans effet pléiotropique ou épistasique, insensible au milieu, stable à tous les stades du développement, n'a pas d'effet sur la croissance ou la reproduction sexuée, sélectivement neutre, facilement observable et sans ambiguïté, automatisable et à faible coût d'analyse.

L'ensemble de ces caractéristiques concerne uniquement les marqueurs moléculaires du génome nucléaire. Les marqueurs des génomes cytoplasmiques (chloroplastique et mitochondrial), n'ont pas une hérédité Mendélienne et de fait qu'ils sont haploïdes, la codominance et la dominance ne s'appliquent pas.

Tableau 1. Propriétés et utilités des marqueurs moléculaires les plus utilisés dans les différentes études menées sur l'ADN du palmier dattier.

	RFLP	RAPD	ISSR	AFLP	SSR
Principe	Détection des sites de restriction	Amplification de l'ADN par des amorces arbitraires	PCR des régions entre les microsatellites	PCR des fragments de restriction	PCR des microsatellites
Type de polymorphisme		Substitution, insertion ou délétion de bases			Nombre du motif répété
Abondance dans le génome	Abondant		Très abondant	Abondant	Moyennement abondant
Degrés de polymorphisme	Moyen		Moyen	Elevé	Elevé
Dominance	Codominant		Dominant	Codominant / dominant	Codominant
Quantité d'ADN nécessaire	Elevée (2-10µg)		Faible (10-25ng)	Elevée (2-10µg)	Moyenne (50-100ng)
Connaissance de la séquence amplifiée	Non		Non	Non	Oui
Coût nécessaire	Moyen		Faible	Moyen	Elevé
Reproductibilité	Elevée	Faible		Moyenne	Elevée
Fiabilité dans les aires d'étude	Diversité génétique	+++	++	++	++
	Différenciation des populations	++	++	++	++
	Phylogénie	+	-	-	+
	Génotypage	++	+	+	++
	(+++) Excellent	(++) Bien	(+) Ok	(+) Utilisé	(-) pas bon ou non utilisé

3. LES MARQUEURS MOLECULAIRES

APPLIQUES SUR LE *PHOENIX*

DACTYLIFERA L.

3.1. La RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Parmi les techniques utilisées dans les caractérisations moléculaires et la détection directe de la variabilité génétique au sein de l'ADN on cite le polymorphisme de longueur des fragments de restriction, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Le principe de cette technique est de digérer l'ADN génomique par une enzyme de restriction pour générer des fragments de différentes longueurs, révélées chimiquement ou radioactivement. La spécificité des enzymes de restriction est telle que le remplacement d'une seule base dans un site suffit pour empêcher la coupure de l'ADN par l'enzyme utilisée. C'est cette spécificité qui est exploitée pour la mise en évidence du polymorphisme. En effet, la présence ou l'absence de site de restriction entraîne un polymorphisme de longueur des fragments d'ADN, générés. Néanmoins, s'il est aisé d'obtenir des fragments polymorphes, leur visualisation est délicate, lorsqu'il s'agit d'analyser des génomes complexes. Ainsi, l'électrophorèse sur gel des produits de digestion de l'ADN génomique génère une traînée continue d'ADN (smear). Dans ce cas, l'identification de fragments particuliers, est réalisée grâce à l'utilisation de sondes moléculaires. Pour cela, l'ADN est transféré du gel sur une membrane de nylon où la position relative des fragments est conservée. Enfin, la membrane est hybridée avec une sonde d'ADN marquée préalablement soit chimiquement, soit par radioactivité. Cette dernière s'hybride avec le ou les fragments d'ADN avec lesquels elle présente des homologies. L'origine de la variabilité des marqueurs RFLP réside dans les mutations au niveau du site de restriction de l'enzyme utilisée dans la séquence ciblée.

Cette technique a été utilisée pour l'identification des cultivars et la comparaison de l'ADN des plantes mères et leurs rejets. Corniquel & Mercier (1994) ont identifié par la technique de RFLP, une combinaison d'Enzyme de restriction - Sonde d'ADNc capable de différencier quelques cultivars de palmier dattier. Sakka et al. (2000) ont développé une banque de gènes à partir des cultivars tunisiens et l'ont utilisés pour démontrer sa capacité

d'identifier les cultivars en générant des marqueurs RFLP. Sakka et al. (2004) ont utilisé l'ADN chloroplastique pour identifier les cultivars tunisiens en appliquant la méthode de PCR-RFLP.

Ces marqueurs présentent l'avantage d'être codominants et le polymorphisme recherché peut balayer tout l'ADN extrait. Les résultats sont hautement reproductibles et une grande diversité a été observée en fonction de l'enzyme et la sonde utilisées. De plus la variation peut être détectée en dehors de la région d'intérêt et ceci lorsque la mutation frappe en dehors de la région d'hybridation de la sonde (Jansen et al., 1998). Toutefois, la technique RFLP nécessite une grande quantité d'ADN et les marqueurs utilisés pour l'ADN nucléaire sont en nombre limité (Dowling et al., 1996). Pour détecter la variabilité, il est nécessaire d'utiliser plusieurs enzymes ce qui rend l'analyse peu coûteuse. De plus certaines enzymes ont des sites de restriction dépendant de la région de méthylation ce qui rend les résultats dépendants de l'activation du gène. Les fragments d'ADN migrent sur gel d'une façon logarithmique ce qui rend difficile de déceler les variations dans les fragments de grandes tailles.

3.2. La RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Elle correspond à une amplification des fragments d'ADN à partir d'amorces aléatoires. Les amorces utilisées sont des décarnères monocaténares dont la séquence, établie de manière aléatoire, est caractérisée par un taux de liaisons G-C supérieur à 50% et l'absence de séquences palindromiques. Pour qu'une amplification soit possible, l'amorce doit s'hybrider de manière antiparallèle sur les deux brins d'ADN à une distance inférieure à 2 kb. Lors d'une amplification, les amorces sont utilisées soit seules soit par couple (Klein Lankhorst et al., 1991). L'origine de la variabilité des marqueurs RAPD réside dans les modifications au niveau du site de fixation de l'amorce (Boury et al., 1992). Il peut s'agir d'une insertion éloignant les deux oligonucléotides, de telle sorte qu'il ne puisse plus y avoir d'amplification, d'une mutation ponctuelle entraînant une perte ou gain d'un site de fixation de l'oligonucléotide ou d'une délétion contribuant à diminuer la distance entre les deux amorces d'où l'obtention d'un fragment invisible après électrophorèse.

La RAPD est largement utilisée dans le domaine du palmier dattier pour l'identification des cultivars et l'étude de leurs relations phylogénétiques (Al-Khalifah et al., 2001 & 2004; Al-Khalifah & Askari, 2003 ; Askari et al., 2003 ; Trifi et al., 2000 ; Ben Abdallah et al., 2000). Cette technique s'avère importante dans l'identification de l'empreinte génétique des cultivars du palmier dattier et dans la détection précoce des génotypes. L'avantage de la RAPD est dans sa simplicité et ne nécessite pas une grande quantité d'ADN génomique. Toutefois, Benkhalifa (1999) a déclaré que les RAPD montrent des difficultés considérables dans la caractérisation des cultivars. Cet auteur a montré que cette technique présente un faible taux de polymorphisme. Par contre elle est largement critiquée pour des raisons techniques (Jones et al., 1997) et théoriques (Harris, 1999). Ces critiques posent des questions liées à la reproductibilité, la structure des amorces, la dominance des marqueurs et l'indépendance des locus.

3.3. ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats)

Cette technique reprend le principe de la RAPD. Les amorces sont constituées en partie d'une séquence de microsatellite (4 à 6 répétitions selon sa taille) et d'une autre à trois bases arbitraires sélectives en 3' ou en 5'. L'amplification par PCR révèle de nombreux fragments flanqués de part et d'autre du même microsatellite en orientation inversée. Le polymorphisme dépend ici du nombre d'unités de répétitions. La quantité de marqueurs polymorphes peut être élevée, alors que la technique est simple et de faible coût.

Dans le domaine du palmier dattier, les marqueurs ISSR sont utilisés pour évaluer le polymorphisme au sein de 12 cultivars tunisiens (Zehdi et al., 2002). Parmi douze amorces ISSR utilisées dans ce travail, seulement sept ont généré des fragments polymorphes. Cette technique a été également utilisée dans l'identification des rejets de palmier dattier (Hamama et al., 2003). Hamza et al., (2012) ont étudié le polymorphisme chez 26 cultivars de palmier dattier originaires des oasis continentales tunisiennes et ceci 7 amorces sélectionnées. Un polymorphisme de 79,07% a été généré ce qui témoigne le niveau élevé de polymorphisme au sein des accessions révélées par les amorces sélectionnées. Ces mêmes auteurs ont réalisé l'AMOVA basée sur les données ISSR ce qui a montré une différenciation

significative entre la sous populations des cultivars à dattes molles et celle des cultivars à dattes sèches ($P_{\text{Hipt}} = 0,126$, $p = 0,005$). Ces résultats témoignent bien l'utilité des marqueurs ISSR et les amorces choisies dans ce travail dans la distinction moléculaire entre ces deux sous populations à critères agronomiques importants.

Les marqueurs ISSR présentent l'avantage d'être très polymorphes. Ainsi, il a été rapporté que ces marqueurs révèlent une variabilité plus importante que les techniques RFLP et RAPD (Nagoaka & Ogihara, 1997). Par ailleurs, ils sont plus reproductibles que ceux générés par la technique RAPD (Nagoaka & Ogihara, 1997). Toutefois, les marqueurs ISSR présentent certains inconvénients tels que leur sensibilité à la variation de la quantité d'ADN matrice et à celle de la température d'hybridation, qui doivent être minutieusement mises au point (Bornet & Branchard, 2001). De plus, dans de nombreux cas, notamment avec l'utilisation d'amorces non ancrées, les marqueurs révélés par cette technique sont générés sous forme de trainées illisibles (Sharma et al., 1995; Gupta et al., 2000).

3.4. RAMPO (Polymorphisme des microsatellites amplifiés au hasard)

C'est une modification de la technique de RAPD pour échapper au manque de reproductibilité et à la dominance. En effet, on procède à une amplification au hasard de l'ADN génomique par des amorces universelles et les amplimères obtenus servent de matrices pour une ISSR. Rhouma et al. (2008) a révélé une grande diversité génétique au sein des cultivars tunisiens par comparaison avec les résultats de la RAPD et de l'ISSR.

3.5. AFLP

Les marqueurs AFLP sont basés sur le polymorphisme de position des sites de restriction d'enzymes (Vos et al., 1995). Elle combine à la fois la puissance de la RFLP avec la flexibilité des techniques basées sur la PCR, dans des conditions de haute stringence. De plus, l'utilisation de deux amorces correspondant à des adaptateurs permet d'obtenir une bonne reproductibilité (Lin et al., 1996), ce qui fait d'elle une technique de choix dans la recherche de marqueurs polymorphes. L'utilisation de diverses enzymes de restriction peut augmenter le nombre de fragments polymorphes amplifiés,

et permettre d'obtenir une répartition différente des marqueurs sur une carte génétique.

L'AFLP a été appliqué sur 21 cultivars du palmier dattier et des espèces sauvages de *Phoenix sylvistris* en vue de développer des marqueurs pour l'identification des rejets et de déterminer la relation phylogénétique entre les cultivars de Californie (Cao & Chao, 2002). Les résultats ont montré la fiabilité de l'AFLP dans l'identification des cultivars et les espèces. La classification n'a pas montré une discrimination des cultivars selon leurs origines géographiques. En Tunisie, les travaux de Rhouma et al. (2007) plaident en faveur de la grande richesse du patrimoine local du palmier dattier. En effet, en utilisant seulement six combinaisons d'amorces un total de 428 bandes polymorphes a été généré.

L'avantage de cette technique est dans le grand polymorphisme obtenu, le caractère dominant ou codominant et elle ne nécessite pas une connaissance préalable du génome. C'est une technique fiable et robuste en la comparant avec les techniques de l'amplification arbitraire du génome mais les mêmes problèmes de reproductibilité subsistent (Robinson & Harris, 2000) et la désignation du locus peut être équivoque si une analyse génétique détaillée n'est pas accomplie (Lowe et al., 2004). Les marqueurs AFLP présentent l'inconvénient de la nécessité d'une très grande compétence technique et une très bonne qualité d'ADN.

3.6. Les marqueurs SSR (Simple Sequence Repeats)

Ce sont des répétitions en tandem de motifs mono, di, tri ou tétra-nucléotidiques, exemple : (AT)_n et (CAG)_n, et sont distribués partout dans l'ADN nucléaire, chloroplastique et mitochondrial (Lowe et al., 2004). Ils sont classés aussi suivant leurs continuités et ainsi on distingue cinq classes : (i) Les microsatellites parfaits : constitués par un seul type de motif répété. Exemple : (ACT)_n, (ii) Les microsatellites imparfaits : la répétition est interrompue par une mutation (substitution ou suppression) d'une base dans un motif. Exemple : (ACT)_n CCT (ACT)_n / (ACT)_n CT (ACT)_n, (iii) Les microsatellites composés : c'est la concaténation de deux microsatellites de motifs distincts. Exemple : (ACT)_n (GA)_m, (iv) Les microsatellites complexes : ce sont des microsatellites composés, avec plus de deux motifs distincts. Exemple : (ACT)_n (GA)_m AA (ACC)_k.

Leclercq (2007) attribue l'origine des microsatellites plutôt à une conséquence des phénomènes de glissement de l'ADN polymérase qui surviennent lors de la réplication de l'ADN qu'à une recombinaison inégale par crossing-over asymétriques entre les chromatides au cours de la méiose. Le nombre de répétition est hautement variable et chaque variation du microsatellite constitue un allèle dont la distinction se fait par différentes méthodes électrophorétiques. Un nouvel allèle est formé après une mutation génétique provoquant une perte ou un gain d'une répétition du motif. Les analyses tiennent compte des différences de tailles des microsatellites et la mutation qui ne mène pas à un changement de nombre de répétitions ne sera pas identifiée. L'amplification des SSR se fait par PCR en utilisant des amorces qui sont complémentaires aux régions bordant un locus.

L'intérêt principal des microsatellites est leur capacité d'être de bons marqueurs génétiques. Ils sont abondants dans les génomes, neutres, codominants, et surtout hypervariables en taille. Ces propriétés en ont fait un outil majeur en biologie des populations, pour évaluer le lien de parenté entre les individus. Cette vision des microsatellites, en tant qu'outil, a donné lieu à une focalisation de la recherche sur leur hypervariabilité et ses conséquences, c'est-à-dire essayer de comprendre comment on pouvait obtenir les distributions en taille des allèles observées dans les populations.

Chez le palmier dattier des amorces SSR spécifiques ont été développées par Billotte et al. (2004). Il s'agit de 16 locus microsatellites dont l'application a montré des valeurs d'hétérozygotie attendue allant de 0,22 à 0,92. Les travaux de Zehdi et al. (2004) pour le génotypage des cultivars tunisiens et la comparaison des populations théoriques géographiques ont montré que les oasis tunisiennes constituent une seule et unique population. Les analyses des données moléculaires des pieds provenant de Tozeur, Kebilli et Gabes n'ont pas montré de différences significatives. Toutefois, Elshibli et al. (2008) ont comparé les cultivars du Soudan avec ceux du Maroc et ont permis de suggérer qu'ils constituent deux populations différentes. Cette différenciation est due à la distance géographique entre les deux provenances ce qui a rendu difficile d'échanger le matériel végétal. Hamza et al. (2011) ont signalé que la variation de la probabilité d'identité (PI) entre les cultivars s'annule à partir de la combinaison de

trois locus microsattellites (Figure 1). Ainsi, l'utilisation de seulement trois marqueurs microsattellites suffit pour discriminer un cultivar du reste de la population. Ce même résultat a été trouvé par Zehdi et al. (2004) qui ont établi des clés d'identification de 46 cultivars de palmier dattier en utilisant seulement trois locus microsattellite (mPdCIR78, mPdCIR85 et mPdCIR25).

L'AMOVA appliquée sur les données SSR pour 26 génotypes de palmier dattier tunisien (Hamza et al., 2011) a montré des résultats différents selon les sous populations étudiées. Il n'y a pas de diversité moléculaire entre les sous populations de la période de maturité et du mode récolte, tandis qu'une diversité génétique significative a été observée entre les sous populations de la consistance fruitière ($p < 0,05$). Malgré la diversité intrapopulation importante, 95%, une diversité significative, 5% ($p < 0,005$) a été décelée entre les sous populations de la consistance fruitière. La comparaison des sous populations a montré une différence génétique significative entre la sous population des cultivars à dattes semi-molles et deux autres groupes : la sous population des cultivars à dattes semi-sèches et celle des cultivars à dattes molles. Cette ségrégation suppose que le palmier dattier dans les oasis continentales tunisiennes ne constitue pas une seule population mais plutôt un ensemble de populations qui pourraient être de différentes origines. On ne peut pas expliquer davantage ces résultats pour le manque d'informations sur l'histoire de l'installation des palmeraies tunisiennes.

4. La génomique du palmier dattier

La taille du génome nucléaire du palmier dattier est d'environ 670 Mb (Al-Mssallem et al., 2013 ; Beal, 1937). Ce n'est qu'en 2009 où la première séquence d'ADN nucléaire du palmier dattier a été disponible sur GenBank (Al-Dous et al., 2011). Aujourd'hui, une base de données en ligne sur les ressources génomiques du palmier dattier a été générée avec les positions des polymorphismes et des locus microsattellites (Hazzouri et al., 2015), fournissant des informations sur l'identification et la classification des cultivars (He et al., 2019). Le tableau 2 montre une liste des projets de séquençage du génome du palmier dattier.

5. Le palmier dattier et la post-génomique

Des études omiques ont été faites pour évaluer le comportement du palmier dattier vis-à-vis du stress abiotique. Un certain nombre d'études basé sur le NGS (Next Generation Sequencing) le transcriptome, le méthylome et d'autres basé sur la protéomique ont été appliquées pour caractériser la réponse du palmier à la salinité. Par exemple, Radwan et al. (2015) ont signalé une expression génique différentielle (DGE) d'un grand pourcentage de gènes dans les jeunes racines de plants traité au sel. En effet, ils ont signalé une baisse de régulation des gènes impliqués dans l'absorption et le transport du sodium et une augmentation de l'expression des gènes de la voie de signalisation de l'ABA. D'autres gènes sont différentiellement exprimés pour le renforcement de la paroi cellulaire. Yaish et al. (2017) ont signalé que sous l'effet de la salinité les gènes exprimés de manière différentielle dans les feuilles avaient un rôle dans la photosynthèse, le métabolisme de l'amidon et du saccharose et la phosphorylation oxydative, tandis que les gènes différentiellement exprimés dans les racines fonctionnent dans le métabolisme du tryptophane, de la purine et de la thiamine. Yaish et al. (2015) ont rapporté des micro-ARN exprimés de manière différentielle dans les feuilles et les racines en réponse au stress salin. Ces auteurs ont répertorié un certain nombre de cibles d'ARNm de ces micro-ARN qui, selon eux, pourraient être liées à la salinité, y compris des éléments de réponse hormonale, des kinases, des facteurs de transcription et des transporteurs (Yaish et Kumar, 2015).

Quelques autres études d'omiques sur la sécheresse du palmier dattier ont été élaborées. Une récente étude de protéomique a identifié des gènes impliqués dans la tolérance au sel et à la sécheresse chez le palmier dattier (Rabey et al., 2016). Les chercheurs ont identifié 47 gènes différentiellement exprimés dans les feuilles.

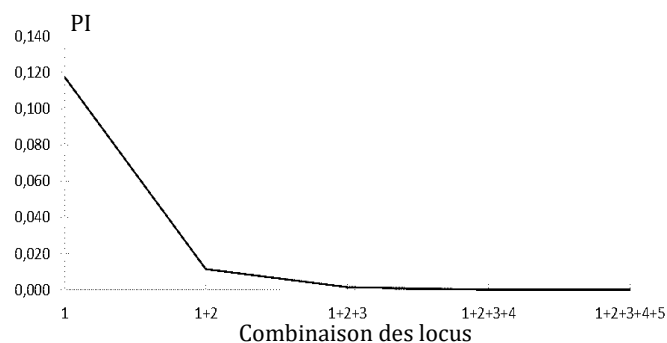


Figure 1. Variation de la probabilité d'identité (PI) des cultivars suivant les combinaisons des locus microsattellites (Hamza et al., 2010).

Tableau 2. Liste de quelques études de séquençage du génome entier des palmiers dattiers (Gros-Balthazard et al., 2018).

Principaux résultats	Référence
✓ Premier assemblage du génome pour le cultivar Khalas. Recherche sur la détermination du sexe, et supporte l'idée d'un système XY d'héritage de genre.	Al-Dous et al. (2011)
✓ Amélioration de l'assemblage du génome du palmier dattier (cultivar Khalas) Des gènes fonctionnels impliqués dans la résistance au stress et le métabolisme des sucres ont été mis en évidence.	Al-Mssallem et al. (2013)
✓ Séquençage de 62 cultivars d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient : On note une plus grande diversité de palmiers dattiers d'Afrique du Nord, proviennent-ils du Moyen-Orient ?	Hazzouri et al. (2015)
✓ Les palmiers dattiers sauvages d'Oman ont été étudiés sur la base des caractéristiques morphométriques des graines et des analyses de diversité (données microsatellites). D'autres analyses du génome entier ont démontré qu'ils sont ancestraux. Il a été démontré que les palmiers dattiers africains proviennent principalement de cultivars du Moyen-Orient, bien qu'une source inconnue de variabilité ait été notée.	Gros-Balthazard et al. (2017)
✓ Le séquençage du génome entier des mâles et des femelles de toutes les espèces de Phoenix a permis l'identification de séquences spécifiques aux mâles. La région de détermination du sexe a été séquencée à l'aide de technologies de lecture longue et annotée. Quatre gènes ont été identifiés et leur analyse a soutenu un modèle à deux mutations pour l'évolution de la dioécie à Phoenix.	Torres et al. (2018)

6. CONCLUSION

Le déploiement des marqueurs efficaces permet de réduire les longues durées de la sélection essentiellement chez les plantes vivaces. Chez le palmier dattier la reproduction des pieds via graines prend au moins cinq ans de culture pour que la première floraison ait lieu. Le développement et l'utilisation de marqueurs pour des caractères de qualité fruitière et d'autres critères agronomiques est intéressant, car cette sélection basée sur des outils moléculaires appliquée au stade plantule, avant la première fructification, accroît considérablement l'efficacité de reproduction sexuée et réduirait le temps de sélection des cultivars.

REFERENCES

Al-Dous, E. K., George, B., Al-Mahmoud & al. (2011). De novo genome sequencing and comparative genomics of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Nature Biotechnology* 29, 521-527.

Al-Khalifah, N. S., Okawara, R., Al-Hafidh, Y., Yaneshita, M., Ohmura, T., Khan, F. A., Askari,

E. & Al-Hindi A. (2001). RAPD Analysis of some Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Cultivars of Saudi Arabia. *Horticultural Science* 36 (3), 535.

Al-Khalifa, N. S. & Askari, E. (2003). Molecular phylogeny of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars from Saudi Arabia by DNA fingerprinting. *Theoretical and Applied Genetics* 107, 1266-1270.

Al-Khalifah N. S., Askari E., Khan F. A. & Hadi S. (2004). In Vitro culture and genetic analysis of male and female date palm (*Phoenix dactylifera* L.). 5th IVCHB Symp. I Debrecen, Hungary 12-17 Sep., pp.55.

Al-Mssallem, I. S., Hu, S., Zhang, X. & al. (2013). Genome sequence of the date palm *Phoenix dactylifera* L. *Nature and Communication* 4, 2274.

Askari, E., Al-Khalifa, N. S., Ohmura, T., Al-Hafedh, Y. S., Khan, F. A., Al-Hindi, A. & Okawara, R. (2003). Molecular phylogeny of seven date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars by DNA Fingerprinting. *Pakistan Journal of botany* 35(3), 323-330.

- Baaziz, M., Majourhat, K. & Bendiab, K. (2000). Date palm culture in the Maghreb countries: constraints and scientific research. Proceedings of the Date Palm International Symposium, Windhoek, Namibia, 22-25 February, pp. 306-311.
- Bates, D. M. (1985). Plant utilization: patterns and prospects. *Economic Botany*, 39, 241-265.
- Beal, J.M. (1937). Cytological studies in the genus *Phoenix*. *Botanical Gazette* 99, 400-407.
- Ben Abdallah, A., Stiti K., Lepoivre, P. & Du Jardin, P. (2000). Identification de cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par l'amplification aléatoire d'ADN (RAPD). *Cahier d'Études et de Recherches Francophones / Agriculture* 9, 103-107.
- Benkhalifa, A. (1999). Gestion de la diversité génétique du palmier dattier en Algérie. Workshop constitution et organisation d'équipes de recherche scientifique dans les domaines de foresterie et des arbres fruitiers, 13-15 April, Marrakech, Morocco.
- Billotte, N., Marseillac, N., Brottier, P., Noyer, J. L., Jacquemoud-Collet, J. P., Moreau, C., Couvreur, T., Chevallier, M. H., Pintaud, J. C. & Risterucci, A. M. (2004). Nuclear microsatellite markers for the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): characterization and utility across the genus *Phoenix* and in other palm genera. *Molecular Ecology Notes* 4, 256-258.
- Bornet, B., Branchard, M. (2001). Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter* 19, 209-215.
- Boury, S., Lutz, I., Gavaldà, M. C., Guidet, F. & Schlessner, A. (1992). Empreintes génétiques du chou-fleur par RAPD et vérification de la pureté hybride FI d'un lot de semences. *Agronomie* 12, 669-681.
- Bradshaw, A.D. (1975). Population structure and the effects of isolation and selection. In Frankel OH, Hawkes JG, eds. *Crop genetic resources for today and tomorrow*, London, England: Cambridge University Press, pp. 37 -51.
- Bretting, P. K. & Widrlechner, M. P. (1995). Genetic markers and plant genetic resource management. *Plant Breeding Reviews* 31, 11-86.
- Cao, B. R. & Chao, C. T. (2002). Identification of date cultivars in California using AFLP markers. *HortScience* 37, 966 -968.
- Corniquel, B. & Mercier, L. (1994). Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar identification by RFLP and RAPD. *Plant Science* 101, 163-172.
- Dowling, T. E., Moritz, C., Palmer, J.D. & Rieseberg, L. H. (1996). Nucleic acids IV: Analysis of fragments and restriction sites. In: *Molecular Systematics* (eds Hillis DM, Moritz C, Mable BK), pp. 249-320. Sinauer Associates Sunderland, MA.
- Elhoumaizi, M. A., Saaidi, M., Oihabi, A. & Cilas, C. (2002). Phenotypic diversity of date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) from Morocco. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49, 483-490.
- Elshibli, S., Korpelainen, H. (2008). Microsatellite markers reveal high genetic diversity in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) germplasm from Sudan. *Genetica* 134, 251-260.
- Ferchichi A., Hamza H. (2008). Le patrimoine génétique phoenicicole des oasis continentales tunisiennes. Institut des Régions Arides, Medenine, Tunisie. 301 pp.
- Frankel, O. H., Brown, A. H. D., Burdon, J. J. (1995). *The conservation of plant biodiversity*. Cambridge University Press, UK.
- Gros-Balthazard, M., Hazzouri, K. M. and Flowers, J. M. (2018). Genomic Insights into Date Palm Origins. *Genes* 9, 502, 1-14.
- Gros-Balthazard, M., Galimberti, M., Kousathanas, A., Newton, C., Ivorra, S., Paradis, L., et al. (2017). The discovery of wild date palms in Oman reveals a complex domestication history involving centers in the middle east and Africa. *Current Biology* 27, 2211-2218.
- Gupta, P. K. & Varshney, R. K. (2000). The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113, 163-185.
- Hamama, L., Cornee, N., Leclerc, V., Marionnet, F., Javouhey, M. & Letouze, R. (2003). Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) offshoot identification by PCR-ISSR markers. *Acta Horticulturae* 616: 453 - 457.
- Hamza, H., Elbakkay, M., Mahmoudi, K., BelKadhi, M. S. & Ferchichi, A. (2006). Measurement of the state of biodiversity in the oasis of Kebili. International Meeting: Resource Management and biotechnology applications in arid and oases cropping: Prospects for the recovery potential of the Sahara. Djerba (Tunisia) December 25-28th, 2006.
- Hamza, H., Giovanni, G. V. & Ferchichi, A., (2010). Etude de la diversité de la population du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) dans les oasis continentales tunisiennes à l'aide des marqueurs microsatellites. Actes du 3ème Meeting International: «Aridiculture et

- Cultures Oasiennes : Gestion et Valorisation des Ressources et Applications Biotechnologiques dans les Agrosystèmes Arides et Sahariens». Djerba (Tunisie) 15-16-17/12/2009. Revue des Régions Arides (Numéro spécial), 7-11.
- Hamza, H., Elbekkay M., Ben Abederrahim, M. A. and Ferchichi, A. (2011). Molecular and morphological analyses of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) subpopulations in southern Tunisia. Spanish journal of Agricultural research 9(2), 484-493.
- Hamza, H., Benabderrahim, M. A., Elbekkay, M., Guasmi, F., Triki, T. & Ferchichi, A. (2012). Investigation of genetic variation in Tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars using ISSR marker systems and their relation with fruit characteristics. Turkish journal of biology 36, 449-458.
- Harris, S. A. (1999). RAPDs in systematic a useful methodology? Pp. 211-228 in Molecular systematics and plant evolution, eds. P. M. Hollingsworth, R. M. Bateman, and R. J. Gornall. London: The Systematics Association.
- Hazzouri, K. M., Flowers, J. M., Visser, H. J., Khierallah, H. S. M., Rosas, U., Pham, G. M., Meyer, R. S., Johansen, C. K., Fresquez, Z. A., Masmoudi, K. & al. (2015). Whole genome resequencing of date palms yields insights into diversification of a fruit tree crop. Nature Communication 6, 8824.
- He, Y., Yang, B., He, Y., Zhan, C., Cheng, Y., Zhang, J., et al. (2019). A quantitative trait locus, qSE3, promotes seed germination and seedling establishment under salinity stress in rice. Plant Journal 97, 1089-1104.
- Jansen, R. K., Wee, J. L., & Millie, D. (1998). Comparative utility of restriction site and DNA sequence data for phylogenetic studies in plants. In D. Soltis, P. Soltis, and J. Doyle (eds.), Molecular Systematics of Plants, 2nd edition. Chapman and Hall, New York, pp. 87-100.
- Jaradat, A. A. & Zaid, A. (2004). Quality traits of date palm fruits in a center of origin and center of diversity. Food, Agriculture and Environment 2, 208-217.
- Jones, C. J., Edwards, K. J., Castaglione, S. & al. (1997). Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. Molecular Breeding 3, 381-390.
- Klein Lankhorst, R. M., Vermunt, A., Weide, R., Liharska, T. & Zabel, P. (1991). Isolation of molecular markers for tomato (*L. Esculentum*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). Theoretical and Applied Genetics 83, 108-114.
- Leclercq, S., Rivals, E., & Jarne, P. (2007). Detecting microsatellites within genomes: significant variation among algorithms. BMC Bioinformatics 8:125.
- Lin, J. J., Kuo, J., Ma, J., Saunders, J. A., Beard, H. S., Macdonald, M. H., Kenworthy, W., Ude, G. N. & Matthews, B. F. (1996). Identification of molecular markers in soybean comparing RFLP, RAPD and AFLP DNA mapping techniques. Plant Molecular Biology Reporter 14, 156-169.
- Louvet, J. & Toutain, G. (1973). Recherches sur les fusarioses VIII. Nouvelles observations sur la fusariose du palmier dattier et précisions concernant la lutte. Annual review of Phytopathology 4, 35-52.
- Lowe, A., Harris, S. & Ashton, P. (2004). Ecological Genetics: Design, Analysis and Application. Oxford: Blackwell Publishing. 326pp.
- Müller, H., Schäfer, N., Bauer, H., Geiger, D., Lautner, S., Fromm, J., & al. (2017). The desert plant *Phoenix dactylifera* closes stomata via nitrate-regulated SLAC1 anion channel. New Phytologist 216, 150-162.
- Nagaoka, T. & Ogiwara, Y. (1997). Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical and applied genetics 94, 597-602.
- Namkoong, G. (1989). System of gene management. In Gibson G. L., Griffin A. R., and Matherson A. C. (Eds.). Breeding tropical trees: population structure and genetic strategies in clonal and seedling forestry, Pattaya, Thailand: Proceedings of IUFRO Conference pp. 1-8.
- Namsi, A., Montarone, M., Serra, P., Ben Mahamoud, O., Takrouni, M.L., Zouba, A., Khoualdia, O., Bové, J. M. & Duran-Vila, N. (2007). Manganese and brittle leaf disease of date palm trees. Journal of Plant Pathology 89 (1), 125-136.
- Nixon, R. W. (1950). Imported varieties of dates in the United States. USDA Circular No. 834.
- Osman, A. M. A. (2001). Development of date palm culture in Republic of Sudan. Paper presented at a workshop on date palm culture and dates production in Republic of Sudan. 22-17 August, Khartoum, Sudan: Date Palm Research and Development Network.
- Rabey, H. E., Al-Malki, A., & Abulnaja, K. (2016). Proteome analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) under severe drought and salt

- stress. *International Journal of Genomics* 7840759.
- Radwan, O., Arro, J., Keller, C., & Korban, S. S. (2015). RNA-seq transcriptome analysis in date palm suggests multi-dimensional responses to salinity stress. *Tropical Plant Biology* 8, 74–86.
- Rhouma A. (2005). *Le palmier dattier en Tunisie I. Le patrimoine génétique*, Volume 2. IPGRI, Rome. 255 pp.
- Rhouma, S., Zehdi, S. A., Ould Mohamed Salem, A., Rhouma, A., Marrakchi, M. & Trifi, M. (2007). Genetic diversity in ecotypes of Tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) assessed by AFLP markers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82, 929-933.
- Rhouma, S. (2008). Analyse de la diversité génétique chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) Étude transcriptomique de la maladie des feuilles cassantes. University of Tunis-El Manar, Tunis, 129pp.
- Robinson, J. & Harris, S. A. (2000). Amplified fragment length polymorphisms and microsatellites: a phylogenetic perspective. In *Which DNA Marker for Which Purpose?* (Gillet, E.M., ed.), pp. 95–121.
- Sakka, H., Trifi, M., Ould, M. S. A, Rhouma, A. & Marrakchi, M. (2000). A building of a random genomic DNA libraries from date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Plant Molecular Biology Reporter* 17, 1-7.
- Sakka, H., Zehdi, S., Ould Mohamed Salem, A., Rhouma, A., Marrakchi, M. & Trifi, M. (2004). Genetic polymorphism of plastid DNA in Tunisian date-palm germplasm (*Phoenix dactylifera* L.) detected with PCR-RFLP. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51, 479-487.
- Sharma, P. C., Huttel, B., Winter, P., Kahl, G., Gardner, R. C. & Weising, K. (1995). The potential of microsatellites for hybridization- and polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting of chickpea. *Electrophoresis* 16, 1755-1761.
- Safronov, O., Kreuzwieser, J., Haberer, G., Alyousif, M., Schulze, W., Al-Harbi, N., & al. (2017). Detecting early signs of heat and drought stress in *Phoenix dactylifera* (date palm). *PLoS One* 12, e0177883.
- Torres, M. F., Mathew, L. S., Ahmed, I., Al-Azwani, I. K., Krueger, R., Rivera-Nuñez, D., Mohamoud, Y. A., Clark, A. G., Suhre, K. & Malek, J. A. (2018). Genus-wide sequencing supports a two-locus model for sex-determination in *Phoenix*. *Nature Communication* 9, 3969.
- Trifi, M., Rhouma, A. & Marrakchi, M. (2000). Phylogenetic relationships in Tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) germplasm collection using DNA amplification fingerprinting. *Agronomie* 20, 665-671.
- Virchow, D. (1999). Conservation of genetic resources: cost and implications for a sustainable utilization of plant genetic resources for food and agriculture. Springer Verlag, Berlin and Heidelberg.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23, 4407-4414.
- Yaish, M. W., Patankar, H. V., Assaha, D. V. M., Zheng, Y., Al-Yahyai, R. & Sunkar, R. (2017). Genome-wide expression profiling in leaves and roots of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) exposed to salinity. *BMC Genomics* 18, 246.
- Yaish, M. W. & Kumar, P. (2015). Salt tolerance research in date palm tree (*Phoenix dactylifera* L.). Past, present and future perspectives. *Frontiers in Plant Science* 6, 348.
- Yaish, M. W., Sunkar, R., Zheng, Y., Ji, B., Al-Yahyai, R. & Farooq, S. A. (2015). A genome-wide identification of the miRNAome in response to salinity stress in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Frontiers in Plant Science* 6, 946.
- Zaid, A. & de Wet, P. F. (2002). Botanical and systematic description of the date palm. In: Zaid A, ed. *Date palm cultivation*. FAO Plant Production and Protection. Paper no. 156. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations pp. 1-28.
- Zehdi, S., Trifi, M., Ould Mohamed Salem, A., Rhouma, A. & Marrakchi, M. (2002). Survey of inter simple sequence repeat polymorphisms in Tunisian date palms (*Phoenix dactylifera* L.). *Genetics and Plant Breeding* 56, 77-83.
- Zehdi, S., Trifi, M., Billotte, N., Marakchi, M. & Pintaud, J. C. (2004). Genetic diversity of Tunisian date palms (*Phoenix dactylifera* L.) revealed by nuclear microsatellite polymorphism. *Hereditas* 141, 278-287.