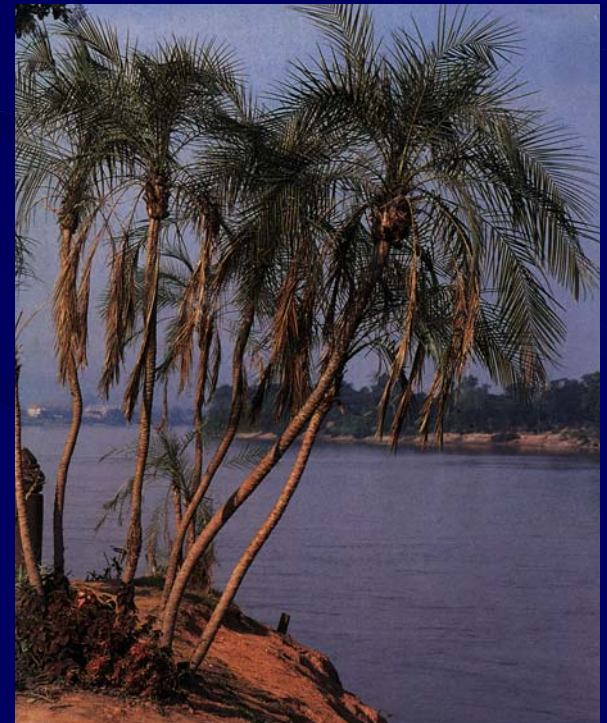
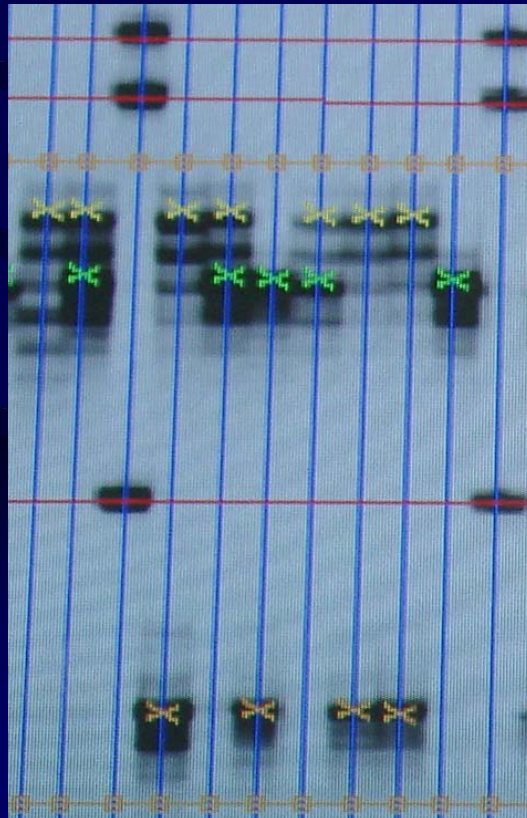


# Analyse de marqueurs microsatellites dans le genre *Phoenix*

P.iberica JCP260	C	T	A	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P.theophrasti JCP 21	C	T	A	T	A	C	T	A	A	C	T	A	C	T	A	T	A	C	T	A	A	C	T	A	C	T	A	T	A
P.sylvestris JCP21	C	T	A	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P.atlantica JCP210	C	T	A	T	A	C	T	A	A	C	T	A	C	T	A	T	A	C	T	A	A	C	T	A	C	T	A	T	A
SZ1	C	T	A	T	A	C	T	A	A	C	T	A	C	T	A	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



# Contexte de l'étude

- Développement de marqueurs moléculaires pour *Phoenix dactylifera* avec le CIRAD en marge d'une opération sur *Elaeis guineensis*
- Obtention d'échantillons de la plupart des espèces de *Phoenix* grâce au réseau des scientifiques spécialistes de palmiers et des jardins botaniques (Sasha Barrow-Kew, Larry Noblick-MBC, Carlo Moricci-Canaries, Robert Castellana-Bordighera, Michel Ferry-Elche, Catherine Ducatillon-Thuret etc...)
- Accueil d'une stagiaire tunisienne à l'IRD de Montpellier pour l'étude de la diversité génétique de 50 cultivars de dattiers tunisiens.
- Fourniture des marqueurs moléculaires à Sally Henderson (NHM, Londres), pour l'étude de *Phoenix atlantica* aux îles du Cap Vert.
- Au total, 150 échantillons de *Phoenix* analysés, représentant toutes les espèces sauf *P. paludosa* et *P. andamanensis*, et incluant 85 échantillons de *P. dactylifera* dont plus de 50 CV identifiés d'Europe, d'Afrique et d'Asie occidentale.

# Les marqueurs moléculaires de type micro- et minisatellites

- Ce sont des portions particulières de molécules d'ADN caractérisées par des répétitions d'un motif particulier composé d'une ou plusieurs des quatre bases (A, T, G, C) qui composent l'ADN.
- Lorsque le motif est court (1 à 6 paires de bases), on parle de microsatellites.
- Lorsque le motif est plus long (jusqu'à 150 pb), on parle de minisatellites.

# Microsatellites

<i>Bactris acanthocarpa</i> BH	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	
<i>Bactris dahlgreniana</i> JCP267	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	-	-	A
<i>Bactris macana</i> JCP268	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	A
<i>Bactris gasipaes</i> GU JCP207	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	-	-	A
<i>Bactris gasipaes</i> BR JCP266	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	-	-	A
<i>Bactris gasipaes</i> PE JCP301	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	-	-	A
<i>Bactris gasipaes</i> NI JCP265	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	-	-	A
<i>Bactris riparia</i> 611	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	-	-	A
<i>Bactris riparia</i> 911	A	A	A	T	A	T	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	-	-	-	-	-	-	A

Microsatellite mononucleotidique (T)<sub>n</sub>

... CCCAGTACGTAAGAGAGAGAGA-----TGCCA... (GA)<sub>5</sub>  
 ... CCCAGTACGTAAGAGAGAGAGAGAGAGAGA----TGCCA... (GA)<sub>9</sub>  
 ... CCCAGTACGTAAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGATGCCA... (GA)<sub>11</sub>

Microsatellite dinucleotidique (GA)<sub>n</sub>

<i>Bactris setulosa</i> JCP813	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	A
<i>Bactris setulosa</i> 703	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	A
<i>Bactris setulosa</i> 775	-	-	-	-	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	A
<i>Bactris plumeriana</i> P276	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	A	T	A	G	A	T	A	G	A	A
<i>Bactris plumeriana</i> BH7758	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	A	T	A	G	A	A

Microsatellite tétranucleotidique (GATA)<sub>n</sub>

# Caractéristiques et propriétés des microsatellites

- Ce sont des structures très abondantes dans les génomes, présentes chez les animaux, les végétaux, les bactéries et les organelles (chloroplaste et mitochondrie)
- Les microsatellites sont généralement très polymorphes, ce qui en fait des marqueurs très utiles en génétique des populations
- Les microsatellites évoluent rapidement (taux de mutation élevé), ce qui les fait diverger entre espèces même très proches

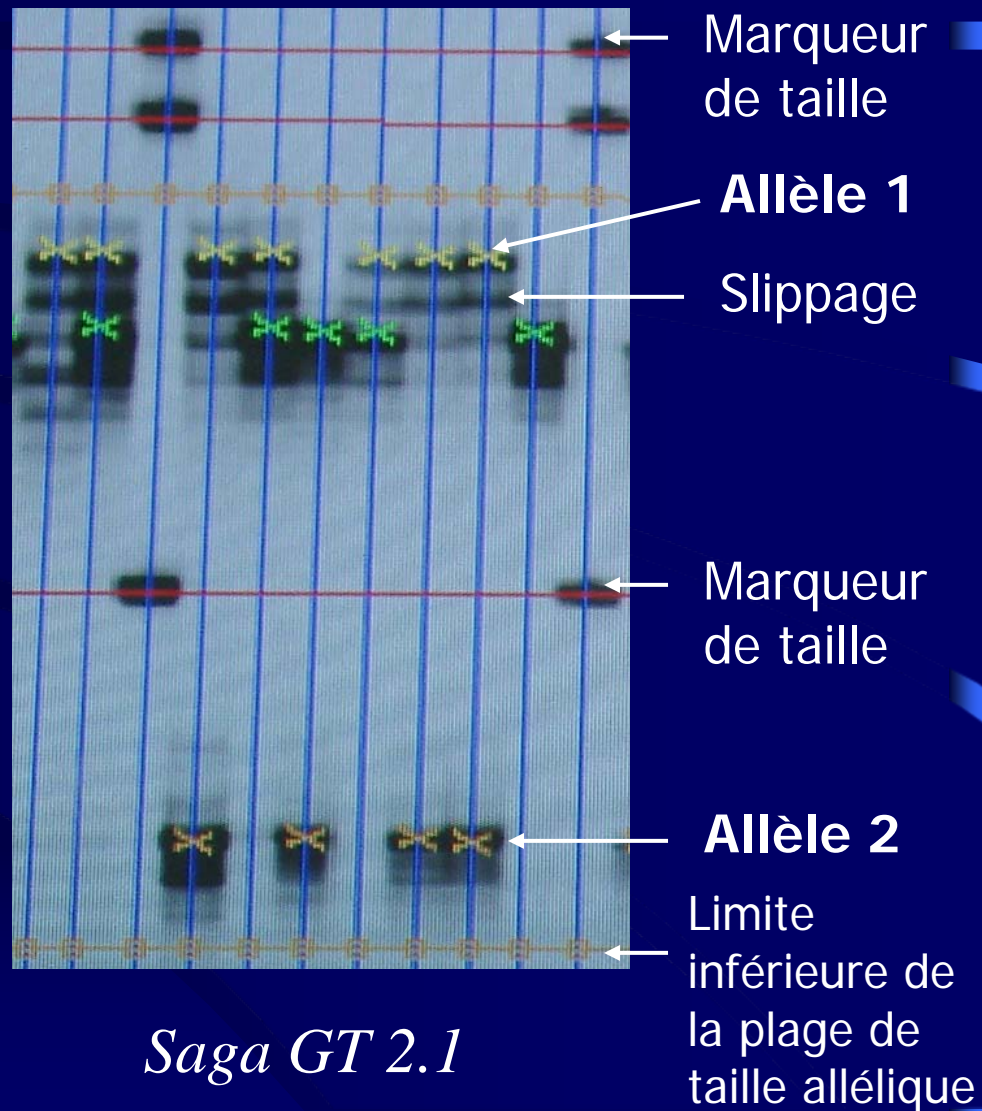
# Génotypage de locus microsatellites nucléaires (GA)<sub>n</sub>

Locus  
étudié

**Pd10**

[Size]	[Frequency]
136	1.1
140	4.1
141	1.4
142	11.8
143	1.6
144	2.3
145	1.4
146	3.9
147	2.0

Individu X



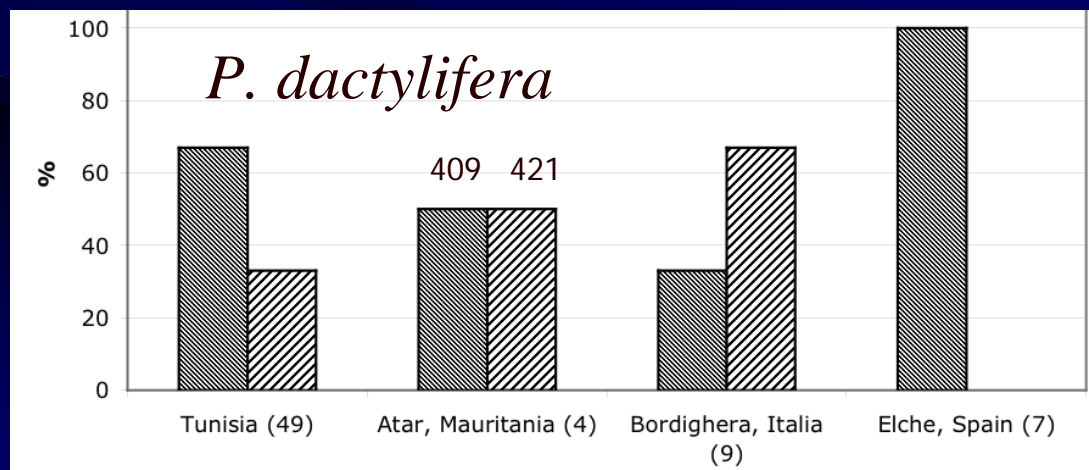
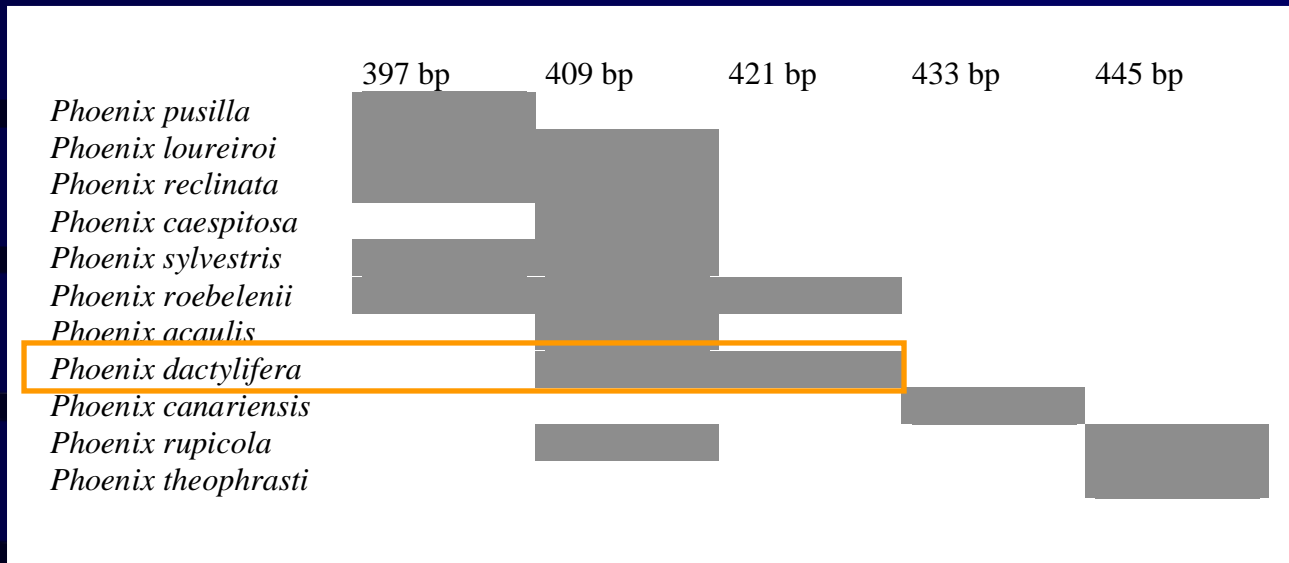


# Intérêt du minisatellite chloroplastique

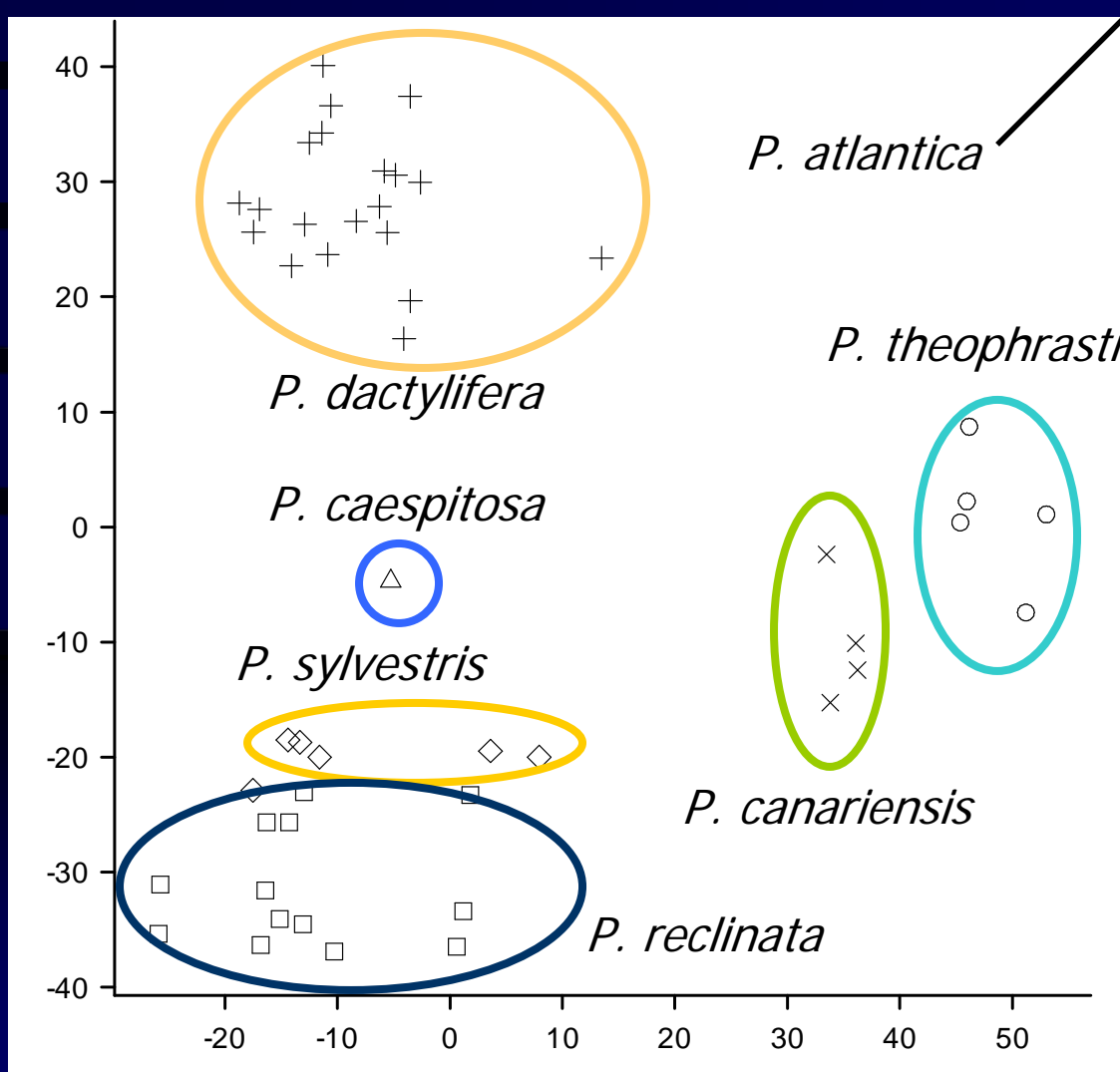
- Il présente un patron de variation distinct entre espèces et permet à lui seul d'identifier certaines espèces
- Il présente une hérédité maternelle (du fait de son origine chloroplastique) et permet dans certains cas d'identifier le parent femelle chez des hybrides



# Variabilité du minisatellite chloroplastique



# Résultats du génotypage de 16 locus microsatellites nucléaires (GA)n



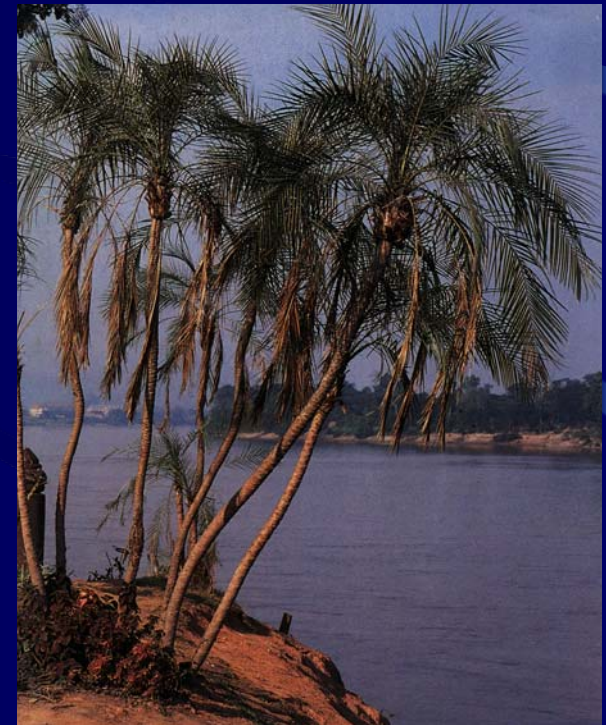
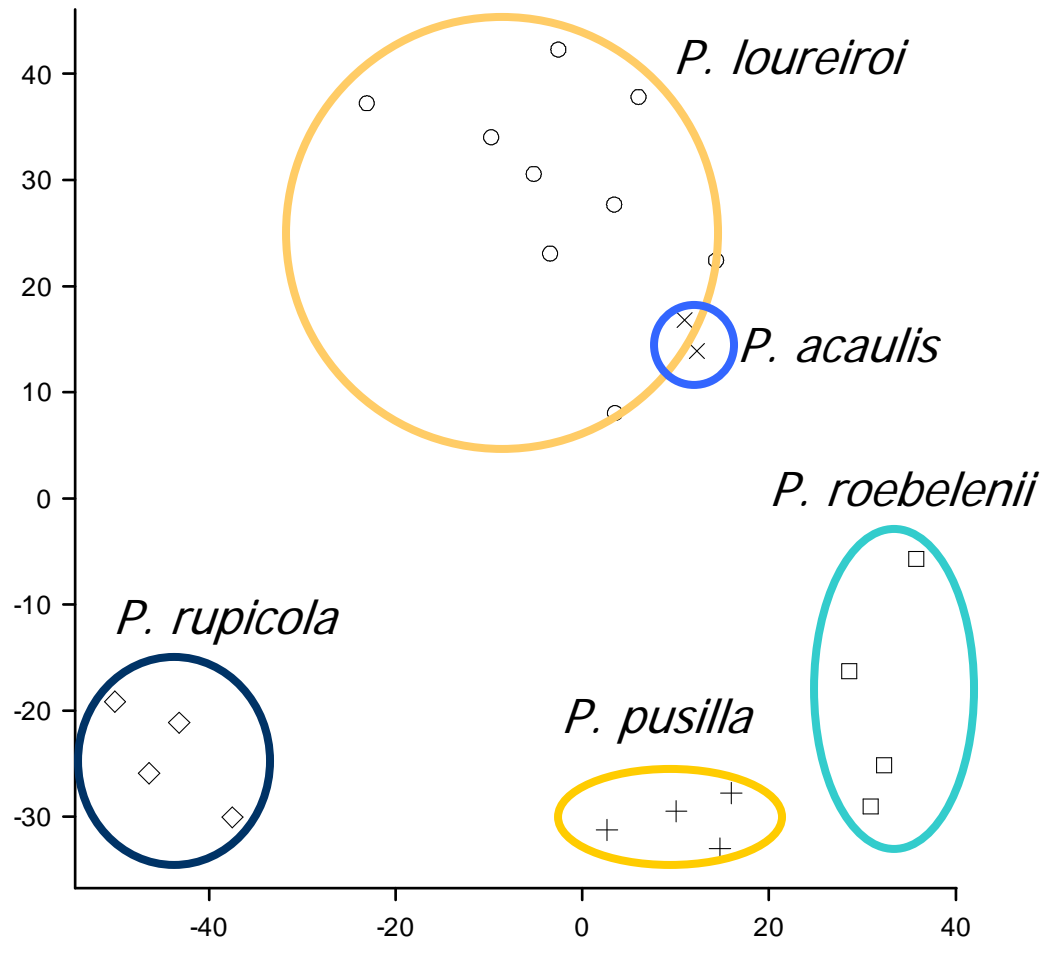
Groupe de  
*Phoenix*  
occidental  
(Atlantique-Inde)



*P. canariensis* - La Palma

# Résultats du génotypage de 16 locus microsatellites nucléaires (GA)n

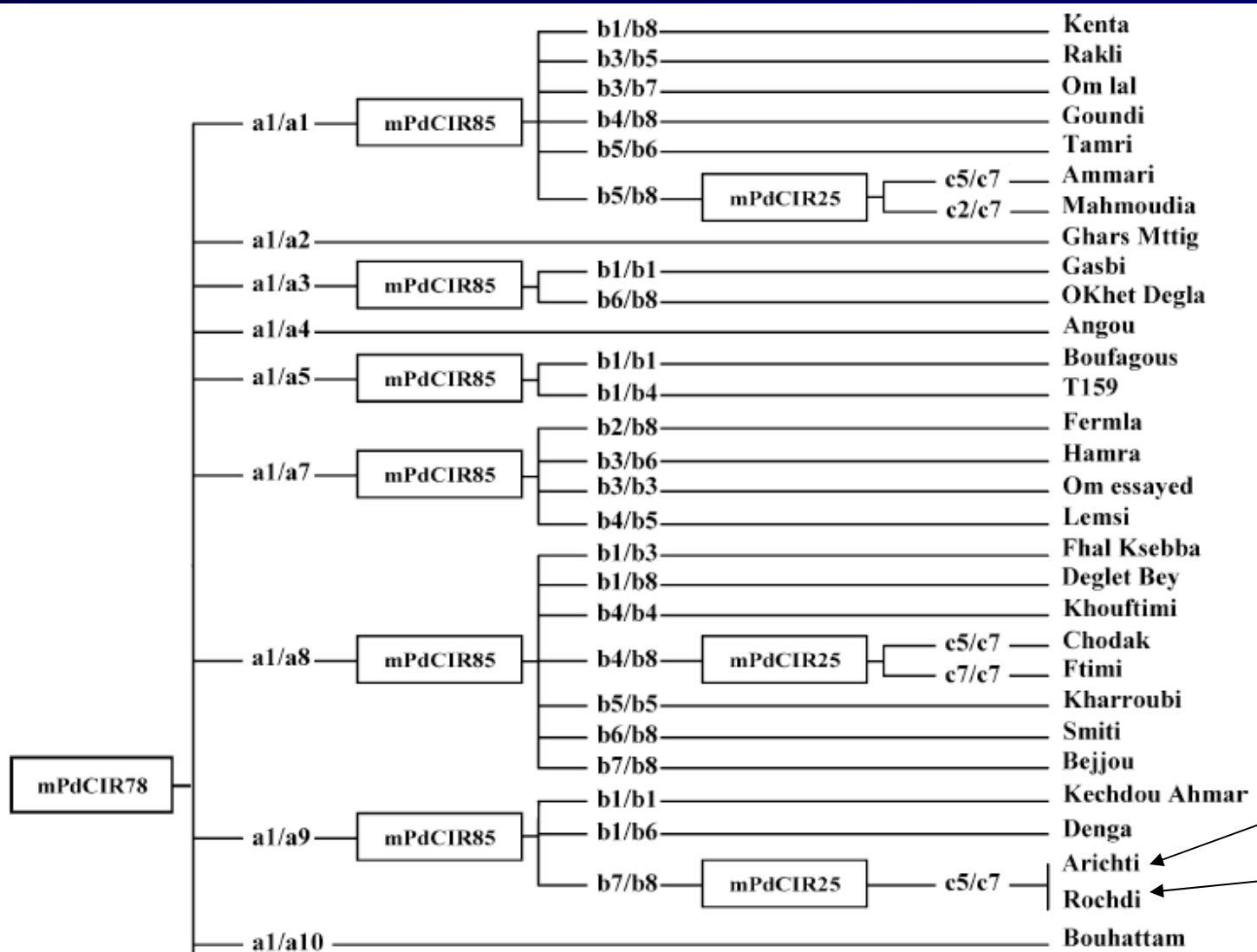
Groupe de  
*Phoenix* oriental  
(Inde-Pacifique)



*P. roebelenii* - revue Principes

# Relations génétiques dans *Phoenix dactylifera*

## Identification moléculaire de cultivars clonaux

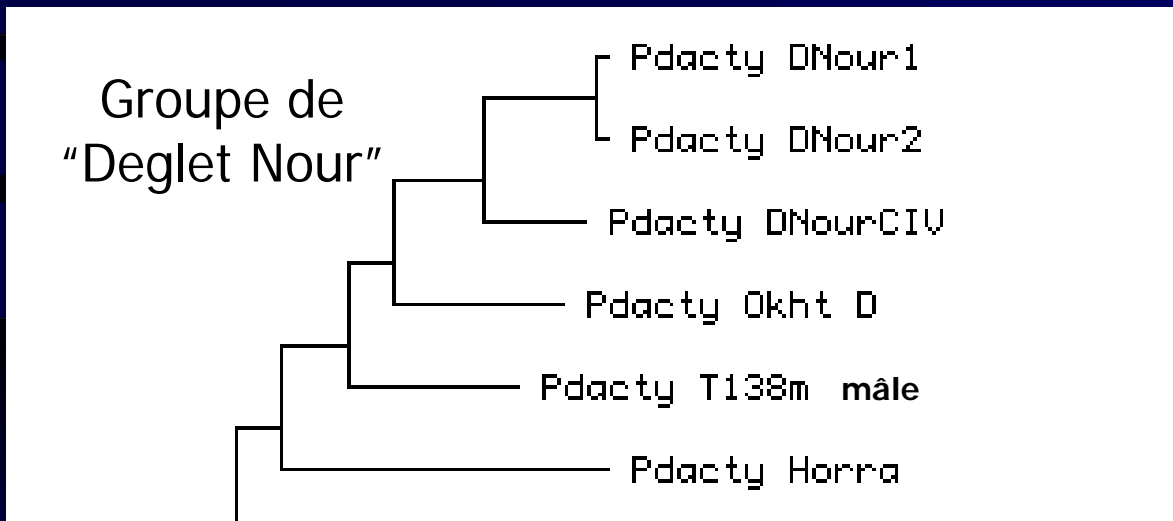
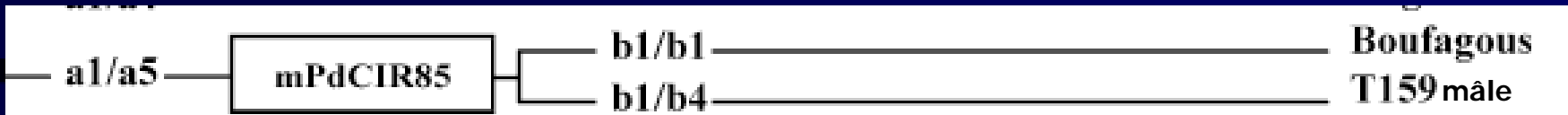


Même clone  
sous deux  
noms :  
Tozeur  
Gabès

# Relations génétiques dans *Phoenix dactylifera*

## Identification moléculaire de cultivars clonaux

### Quelles sont les affinités des pieds mâles?



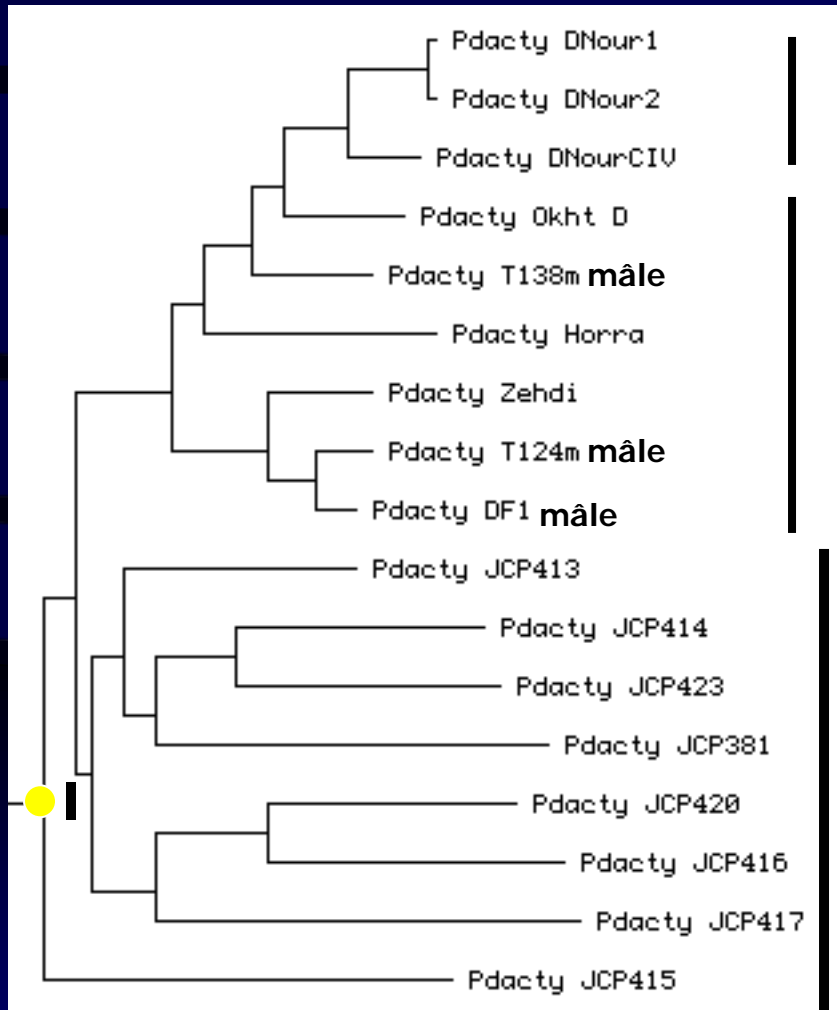
Les pieds mâles présentent souvent de très fortes affinités avec des cultivars (femelles) déterminés

Dans les oasis traditionnelles de Tunisie, 40% des pieds mâles mais seulement 2 CV\* sur 38 génotypés sont affines de “Deglet Nour”.

\* “Horra” et “Okhet Degla”

# Relations génétiques dans *Phoenix dactylifera*

## Origine des dattiers de Bordighera et de Elche



“Deglet Nour” (Algérie)

CV Tunisiens “Horra” et “Okhet Degla” très proches de “Deglet Nour”, et mâles apparentés

Génotype local (Bordighera)

Génotype local (Bordighera)

Génotype local (Bordighera)

Origine inconnue (Dakar)

Génotype local (Bordighera)

Génotype local (Bordighera)

Génotype local (Bordighera)

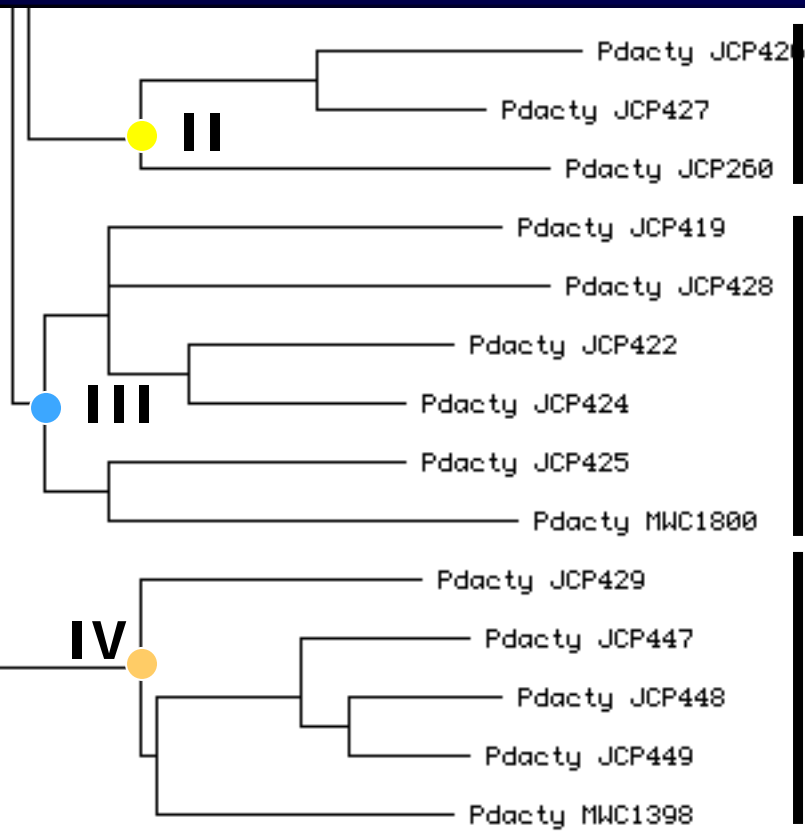
Génotype local (Bordighera)

**Groupe I**

**Génotypes affines de “Deglet Nour”**

# Relations génétiques dans *Phoenix dactylifera*

## Origine des dattiers de Bordighera et de Elche



Génotype local (Elche)  
Génotype local (Elche)  
*Phoenix "iberica"*

**Groupe II**

Ibérique

Génotype local (Bordighera)  
Génotype local (Elche)  
Génotype local (Bordighera)  
Génotype local (Elche)  
Génotype local (Elche)  
Génotype local (Elche)

**Groupe III**

Bordighera-  
Elche

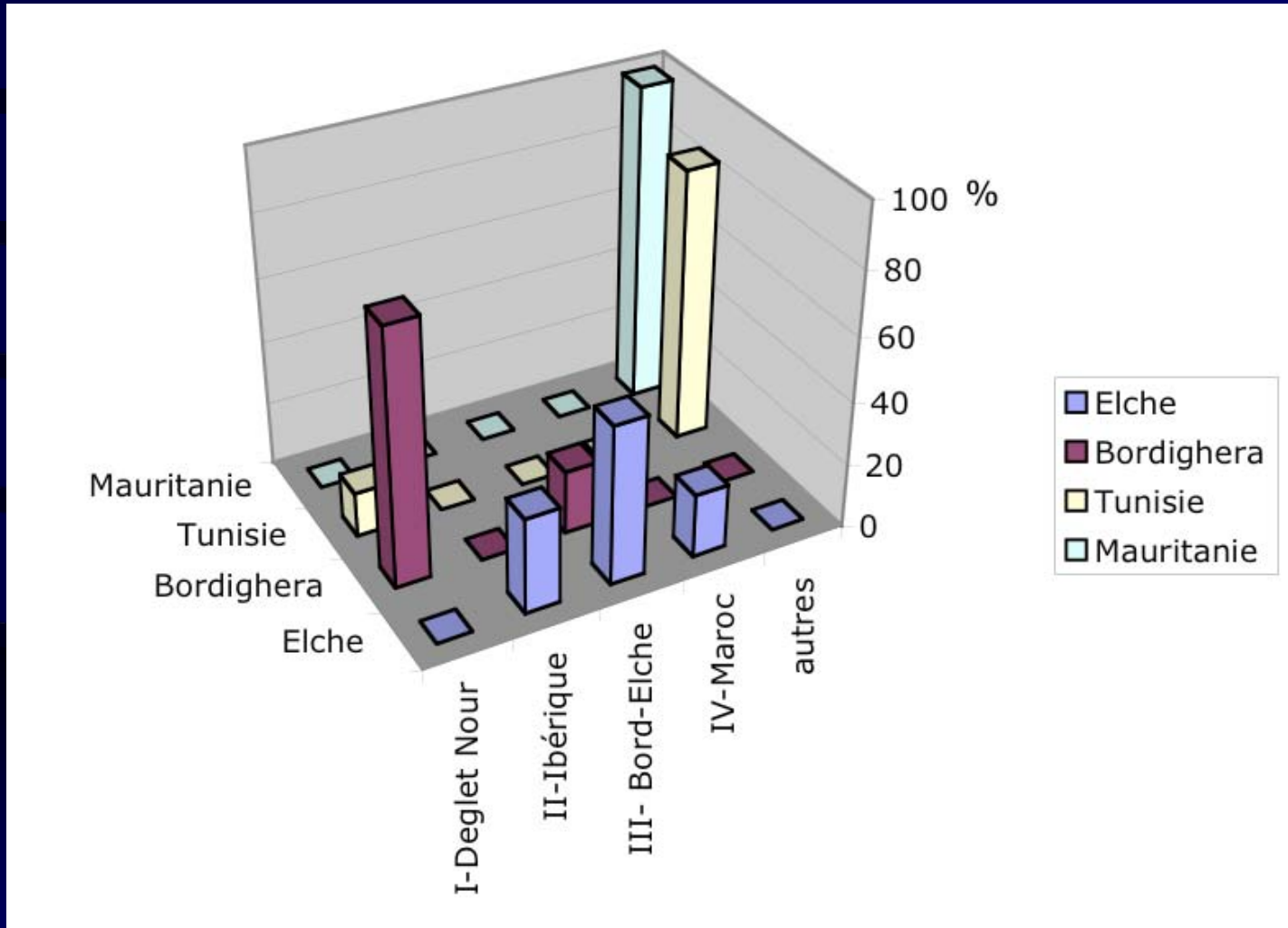
"Bou Feggous" (Maroc)  
"Medjouf" (Maroc)  
"Medjouf Ilicitan" (Elche)  
"La Confitera" (Elche)  
Origine inconnue (Kew)

**Groupe IV**

Origine  
marocaine

# Relations génétiques dans *Phoenix dactylifera*

## Origine des dattiers de Bordighera et de Elche



Importance relative des 4 groupes de cultivars



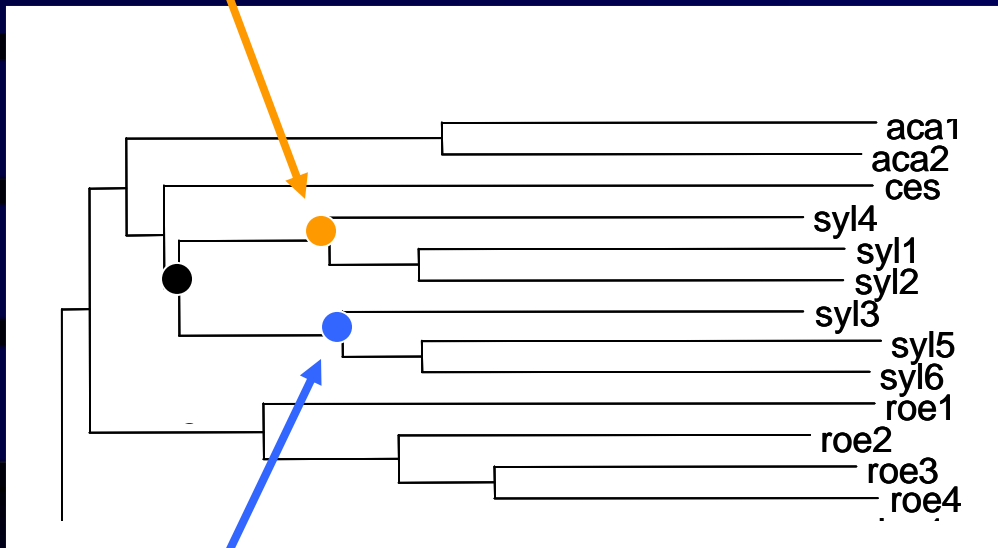
# Relations génétiques dans *Phoenix dactylifera*

## Origine des dattiers de Bordighera et de Elche

- Les palmeraies de Bordighera et de Elche présentent une composition génétique très différente.
- A Bordighera, il y a une très forte prédominance de génotypes proches de « Deglet Nour », CV d'origine algérienne (ces génotypes sont absents à Elche).
- A Elche en revanche, les affinités des génotypes correspondent plus aux proximités géographiques (composantes ibérique et marocaine).
- Les deux palmeraies ont cependant en commun des génotypes qui leur sont apparemment propres (rares à Bordighera, communs à Elche), que l'on n'a pas retrouvé, jusqu'à présent, en Afrique du Nord.

# Relations génétiques dans *Phoenix sylvestris*

Winter + Thuret



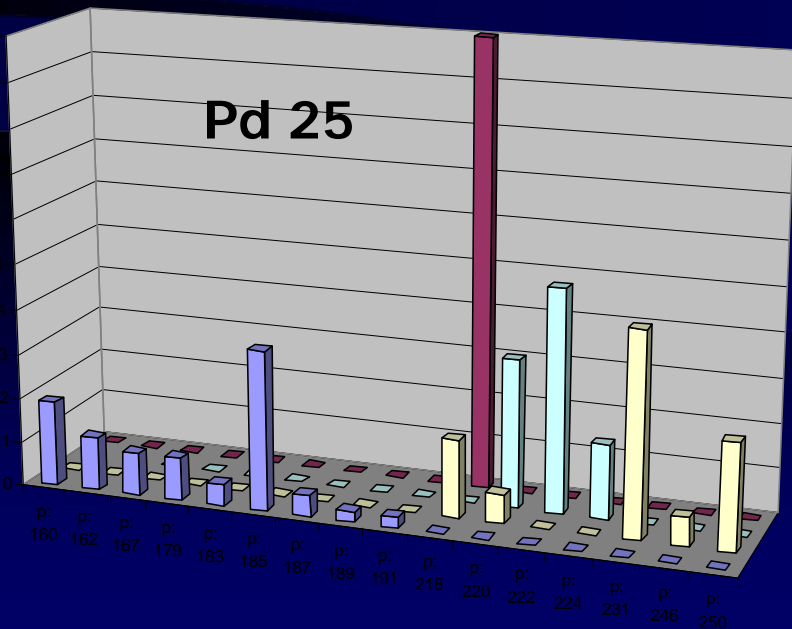
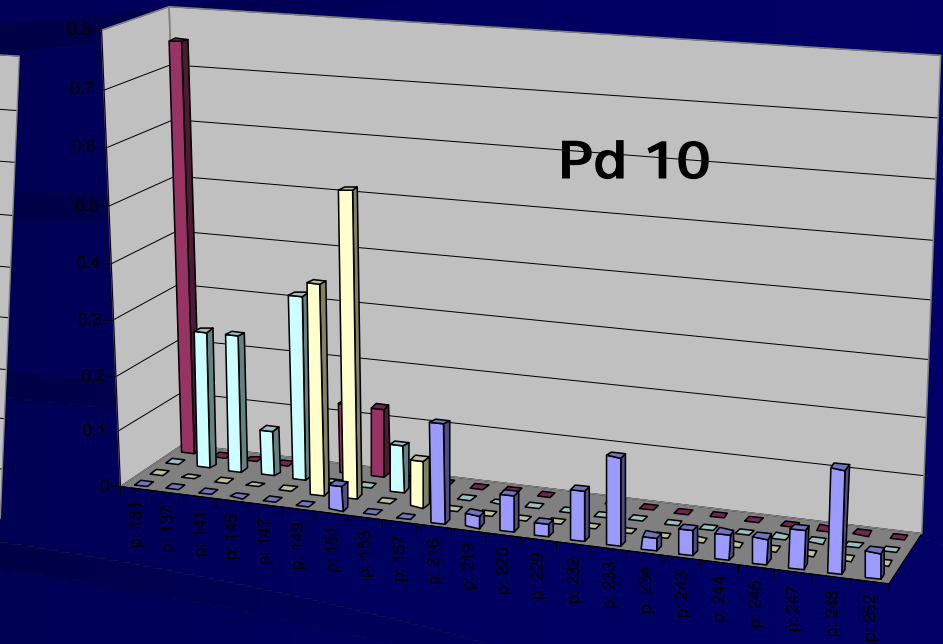
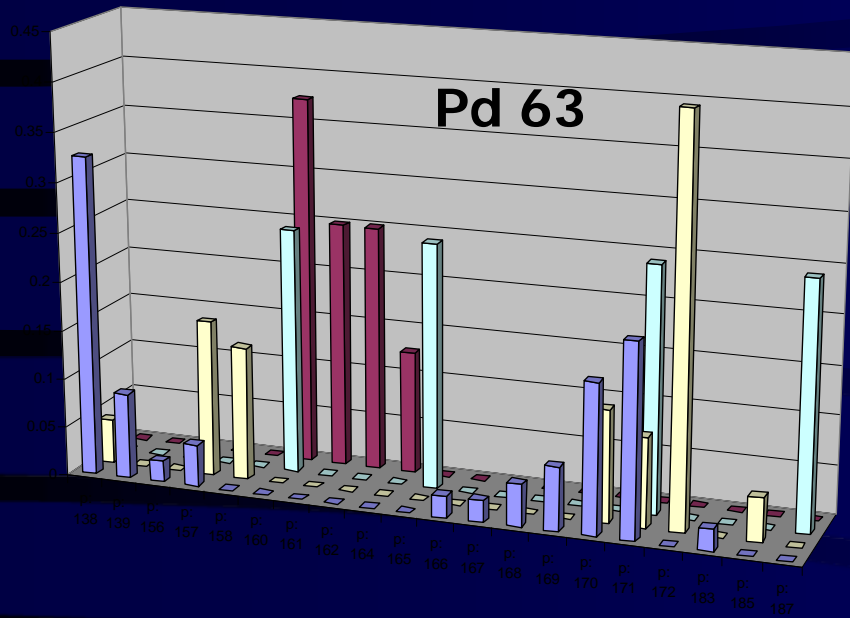
Inde

Les vieux *Phoenix sylvestris* du sud de la France semblent représenter une introduction unique d'origine indéterminée



Parc Vigier, Nice

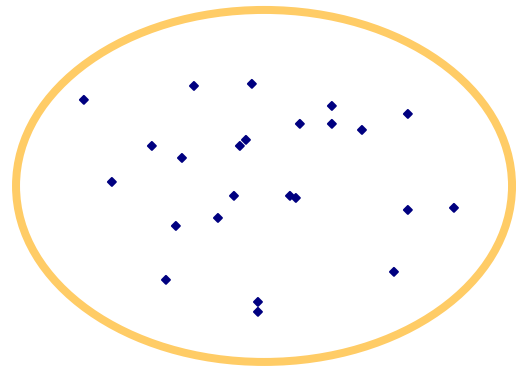
# Relations génétiques de *Phoenix atlantica*



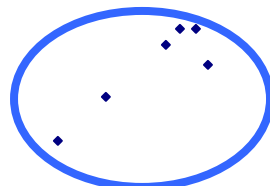
De l'avant vers l'arrière  
des graphiques :

- *P. atlantica*
- *P. dactylifera*
- *P. sylvestris*
- *P. canariensis*

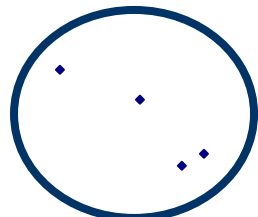
# Relations génétiques de *Phoenix atlantica*



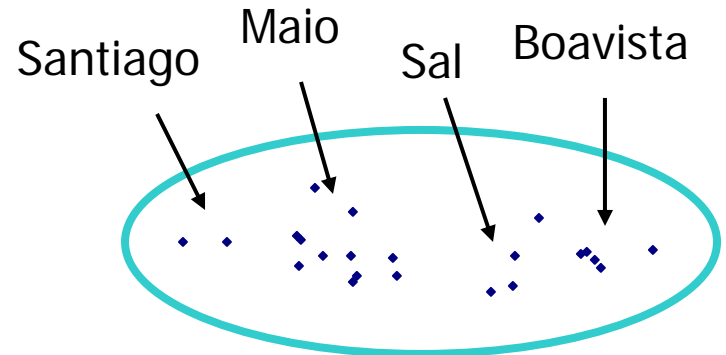
*P. dactylifera*



*P. sylvestris*



*P. canariensis*



*P. Atlantica*

Cap Vert

# Identification des hybrides

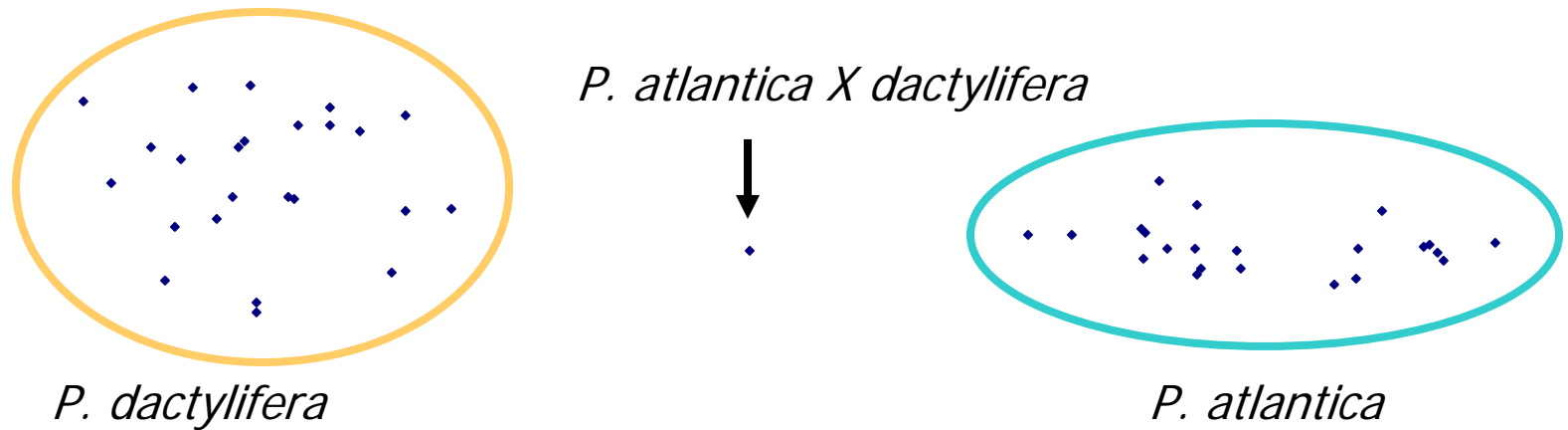
- Du fait de la grande différenciation génétique interspécifique, et en particulier de la présence d'allèles diagnostiques de chaque espèce, il est facile d'identifier des hybrides
- Les hybrides les plus communs en culture sur la Côte d'Azur sont des *P. canariensis* x *sylvestris* et *P. canariensis* x *P. dactylifera*, parfois rehybridés avec *P. reclinata*.
- Les hybrides ne sont pas toujours reconnaissables, en particulier certains palmiers qui semblent être de purs *P. sylvestris* sont en fait des hybrides avec *P. canariensis* (descendants des *P. sylvestris* femelles purs plantés au 19ème siècle pollinisés par *P. canariensis*)

# Hybrides *Phoenix canariensis* X *dactylifera* dans les îles Canaries



Aux îles Canaries, des individus isolés mais fréquents de *Phoenix* morphologiquement proches de *P. dactylifera* (feuilles glauques, pennes dans différents plans), mais souvent à têtes multiples, sont en fait des hybrides spontanés entre *Phoenix canariensis* (le plus souvent comme parent femelle) et *P. dactylifera*. Ces spécimens n'ont aucune parenté avec *P. atlantica* et ressemblent plus à *P. dactylifera* même lorsque leur génome est majoritairement issu de *P. canariensis*.

# Hybrides *Phoenix atlantica* X *dactylifera* dans les îles du Cap Vert



Contamination génétique des *P. atlantica*  
endémiques par les *P. dactylifera* introduits  
(phénomène localisé)

# Conclusion

- Possibilité d'identifier moléculairement toutes les espèces de *Phoenix* ainsi que leurs hybrides et les CV de dattiers de manière extrêmement fiable à condition d'avoir une bonne base de données de référence, laquelle est encore incomplète
- Applications possibles pour l'identification des individus en culture, dès la plantule, pour la certification variétale, pour la mise en évidence de pollution génétique d'espèces sauvages potentiellement menacées
- Reste à élucider l'origine de *Phoenix dactylifera* qui ne montre aucune affinité avec les espèces sauvages, en particulier *P. atlantica*, *P. theophrasti* et *P. sylvestris*.
- Les marqueurs utilisés ne permettent pas de déterminer le sexe des individus



PRIMER NOTE

# Nuclear microsatellite markers for the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): characterization and utility across the genus *Phoenix* and in other palm genera

N. BILLOTTE,\* N. MARSEILLAC,\* P. BROTTIER,† J.-L. NOYER,\* J.-P. JACQUEMOUD-COLLET,\* C. MOREAU,‡ T. COUVREUR,‡ M.-H. CHEVALLIER,\* J.-C. PINTAUD‡ and A.-M. RISTERUCCI\*  
\*CIRAD (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement), UMR 1096 Polymorphismes d'Intérêt Agronomique, TA 40/03 Avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5, France, †GENOSCOPE (Centre National de Séquençage), 2 rue Gaston Crémieux CP5706, 91057 Evry cedex, France, ‡IRD (Institut de Recherche pour le Développement), UMR DGPC/DYNADIV, 911 Avenue Agropolis BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

## Abstract

A (GA)<sub>n</sub> microsatellite-enriched library was constructed and 16 nuclear simple sequence repeat (SSR) loci were characterized in *Phoenix dactylifera*. Across-taxa amplification and genotyping tests showed the utility of most SSR markers in 11 other *Phoenix* species and the transferability of some of them in *Elaeis guineensis*, 11 species of *Pritchardia*, *Pritchardiopsis jeanneneyi* and six species of *Astrocaryum*. The first to be published for *P. dactylifera*, these new SSR resources are available for cultivar identification, pedigree analysis, germplasm diversity as well as genetic mapping studies.

*Keywords:* across-taxa utility, date palm, microsatellite, *Phoenix*

## Genetic diversity of Tunisian date palms (*Phoenix dactylifera* L.) revealed by nuclear microsatellite polymorphism

SALWA ZEHD<sup>1</sup>, MOKHTAR TRIFI<sup>1</sup>, NORBERT BILLOTTE<sup>2</sup>, MOHAMED MARRAKCHI<sup>1</sup> and JEAN CHRISTOPHE PINTAUD<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Génétique Moléculaire, Immunologie & Biotechnologie, Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire, El Manar I, Tunis, Tunisia

<sup>2</sup>CIRAD (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement), UMR 1096 Polymorphismes d'Intérêt Agronomique, Montpellier, France

<sup>3</sup>IRD (Institut de Recherche pour le Développement), UMR DGPC/DYNADIV, Montpellier, France

Zehdi, S., Trifi, M., Billotte, N., Marrakchi, M. and Pintaud, J. C. 2004. Genetic diversity of Tunisian date palms (*Phoenix dactylifera* L.) revealed by nuclear microsatellite polymorphism. — *Hereditas* 141: 278–287. Lund, Sweden. ISSN 0018-0661. Received March 9, 2004. Accepted October 26, 2004

Fourteen microsatellite loci of *Phoenix dactylifera* were targeted to examine the genetic diversity in Tunisian date-palms germplasm. They showed a high level of polymorphism in 49 accessions from three main oases with little geographic structure within Tunisia. The microsatellite data agrees with previous analyses of Tunisian germplasm using other molecular markers. 100% of local date-palms accessions were successfully fingerprinted and easily distinguished by the help of only three loci. The possibility of using microsatellites for large scale molecular labelling of offshoots and in vitro plantlets and their implication in the plant material certification is discussed.

Mokhtar Trifi, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Immunologie & Biotechnologie, Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire, El Manar I, Tunis, Tunisia. E-mail: Mokhtar.T@fst.rnu.tn