MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE SUPÉRIEURE AGRONOMIQUE DE MONTPELLIER

THÈSE

présentée à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier

pour obtenir le DIPLÔME DE DOCTORAT

Spécialité: Sciences Agronomiques (Amélioration des plantes)
Ecole doctorale: Biologie des systèmes intégrés, Agronomie, Environnement
Laboratoire d'Analyse du Génome des Plantes Tropicales (AGETROP/BIOTROP/CIRAD)
CIRAD-CP - Programme Palmier

TITRE

Etude de la diversité génétique du genre *Elaeis* (*E. oleifera* (Kunth) Cortés et *E. guineensis* Jacq.) par marqueurs moléculaires (RFLP et AFLP)

par

BARCELOS, Edson

Soutenue le 06 juillet 1998, devant le jury composé de :

BERTHAUD, J.	Directeur de Recherche	ORSTOM - Montpellier	Directeur de Thèse
CHARRIER, A.	Professeur	ENSA - Montpellier	Examinateur
HERVÉ, Y.	Professeur	ENSA - Rennes	Rapporteur
SARR, A.	Professeur	Université Paris VI	Rapporteur
SEGUIN, M.	Chargé de Recherche	CIRAD - Montpellier	Examinateur
THALER, L.	Professeur	Université Montpellier II	Président du jury

REMERCIEMENTS

Je voudrais tout d'abord remercier M. le Professeur André Charrier, qui m'a accepté pour réaliser cette thèse à l'ENSAM. Je lui suis reconnaissant pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail, pour ses conseils scientifiques et surtout pour ses corrections sur le manuscrit.

Je remercie très sincèrement M. Julien Berthaud, qui a pris la responsabilité de cette thèse auprès de l'ENSAM. Je lui suis très reconnaissant pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail, ses conseils scientifiques ainsi que pour son amabilité et sa constante disponibilité.

A Marc Seguin, qui en tant que responsable de l'orientation de ce travail au sein du CIRAD, m'a apporté sa connaissance et m'a accordé de son temps, j'adresse mes remerciements les plus sincères.

Je suis particulièrement reconnaissant à M. Hervé et à M. Sarr, d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont également à M. Thaler pour avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse.

Mes remerciements à F. Lefèvre et J. David pour leurs commentaires et suggestions auprès du comité de thèse.

Je remercie Mme Claire Lanaud, Directrice du laboratoire AGETROP/CIRAD, de m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Que M. Jean-Marie Noiret, M. Bertrand Tailliez, Françoise Potier, Luc Baudouin, Norbert Billotte, Mme Gobart et Mlle Cros, tous du CIRAD/CP, trouvent ici l'expression de ma reconnaissance pour l'appui, l'amitié et l'agréable ambiance que j'ai eu le plaisir d'apprécier pendant mon séjour au sein du CIRAD/CP/Programme Palmier.

Que Philippe Amblard, avec qui j'ai eu le privilège de partager le même bureau pendant plus de 11 ans, à Manaus puis à Montpellier, trouve ici ma reconnaissance pour son appui pendant l'exécution de ce travail ainsi que ma gratitude toute spéciale pour son amitié, sans oublier sa famille.

Je remercie tout spécialement Patricia Lebrun, responsable de mon baptême et de ma formation sur les techniques de biologie moléculaire. De la même façon, je suis reconnaissant et remercie Maguy Rodier, Jean-Louis Noyer et Ange-Marie Risterucci, qui ont beaucoup contribué à ma formation et m'ont dépanné d'innombrables fois pendant mes manips, pour leur amitié et leur présence toujours très agréables.

En Côte d'Ivoire, je remercie très sincèrement Benjamin Adon, Tristan Durand-Gasselin et Benoît Cochard, pour les contacts aimables et l'envoi de matériel.

Je remercie Chantal Hamelin, François Bonnot et Xavier Perrier, de la BIOMÉTRIE/CIRAD, pour leur appui sur les conseils en analyses statistiques et informatiques. Je remercie spécialement Albert Flori, pour son appui sur la partie informatique, analyses de données et programmation.

Mes remerciements vont enfin et plus chaleureusement à tous mes amis du laboratoire AGETROP/CIRAD. Leur amitié a été la chose la plus importante pendant l'exécution de cette thèse :

- Marie-Françoise Métivier et André Bouet pour leur disponibilité.

- Laurent Grivet, Pierre Lagoda, qui ont eu la ténacité de lire et relire mes manuscrits (ils ont de ce fait appris quelques mots brésiliens).

- Perla Hamon, Monique Deu, Florence Paulet, Isabelle Pieretti, Angélique D'Hont, toujours très aimables.

- MM. J. Schwendiman, J.C. Glaszman, D. Nicolas et J. Escoute, pour les aimables contacts et informations.

- Je remercie vivement tous les collègues et surtout thésards et stagiaires, pour les avoir eu comme amis : Alix Pernet, Carole Asnaghi, Claudia Kaye, Didier Clément, Denis Lespinasse, Juan Carlos Motamayor, Marie-France Duval, Mariette Flament, Nazeema Jannoo, Razak Purba.

- Franck-Christophe et Carole Baurens qui ont eu la gentillesse de corriger mes phrases longues et tordues très souvent incompréhensibles.

- Je remercie spécialement Karine Alix, pour sa sincère amitié.

Aux amis de l'ORSTOM/CIV/LARGP, Alain Rival, Yves Duval, Thierry Beulé, Serge Hamon, Michel Noirot, Pierre Trouslot, James Tregear et Véronique Nardini, merci beaucoup. A Philippe Barre, merci pour les informations et la formation sur la cytométrie en flux.

Je remercie Francis Khan pour les discussions et suggestions ainsi que pour l'appui financier de cette étude à travers le projet ACC-SV7, SOFT-DGAD-SRAE/94214/ORSTOM/France-Projet Palmiers d'Amazonie ; et Gérard Second, pour les discussions et son aide pour les analyses AFLP.

A MM. Christian Gounel et Jean-Claude Lorente du CIRAD/Télédétection pour les cartes et surtout leur gentillesse.

Je remercie M. Jean Maley de l'Université Montpellier II et M. Jean-Marie Cornuet de l'INRA/ENSAM pour les contacts aimables et discussions intéressantes que nous avons eues.

Je remercie également la Direction de l'EMBRAPA/Brésil de m'avoir donné l'exceptionnelle opportunité de réaliser cette formation. Je suis reconnaissant aussi au CIRAD/CP pour tout l'appui et mise à disposition dont j'ai bénéficié pendant la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont aussi à M. Brou Kouamé, Directeur de l'IDEFOR/DPO Côte d'Ivoire pour m'avoir permis l'accès au matériel végétal utilisé dans cette étude.

Je remercie enfin les participants de la prospection du matériel d'*E. oleifera* en Amazonie Brésilienne : MM. Jacques Meunier, Abilio Pacheco, Emeleocipio Andrade, Philippe Amblard, Soi Chai Ooi.

Je dédie cette thèse à Del et aux magnifiques résultats de la génétique à l'ancienne que sont Rafael, Felipe et Raquel.

SOMMAIRE

I - INTRODUCTION 2
II - ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE 5
II.1 - TAXONOMIE ET BOTANIQUE 5
II.1.1 - Le genre *Elaeis* Jacq. 5
II.1.1.1 - L'espèce *Elaeis guineensis,* Jacq. - le palmier à huile africain 5
II.1.1.2 - L'espèce *Elaeis oleifera* (H.B.K.) Cortés - le palmier à huile américain 7
II.1.2 - L'espèce *Barcella odora* 8
II.2 - LE PALMIER À HUILE, SA MISE EN CULTURE ET SON AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE 9
II.2.1 - La domestication du palmier à huile 9
II.2.2 - L'expansion de la culture du palmier à huile 9
II.2.3 - L'amélioration génétique du palmier à huile 12
II.2.4 - L'hybride E. *oleifera x E. guineensis* 14
II.3 - RESSOURCES GÉNÉTIQUES 17
II.3.1 - Origine et dispersion des espèces d'*Elaeis* 17
II.3.2 - Organisation de la diversité génétique des espèces de plantes pérennes 18
II.3.3 - Organisation de la diversité génétique de la flore amazonienne 19
II.3.4 - L'amélioration du palmier à huile et les ressources génétiques 21
II.3.5 - "Core collection" 22
II.3.5.1 - Considérations générales 22
II.3.5.2 - Intérêt d'une "core collection" pour le palmier à huile 23
II.4 - LES GÉNOMES DES PLANTES ET LES MARQUEURS MOLÉCULAIRES 24
II.4.1 - Le génome nucléaire 25
II.4.2 - Les génomes cytoplasmiques 27
II.4.2.1 - Le génome chloroplastique 28
II.4.2.2 - Le génome mitochondrial 29
II.4.3 - La quantité d'ADN nucléaire 30
II.4.4 - L'intérêt des marqueurs moléculaires 31
II.4.4.1 - Les marqueurs RFLP 33
II.4.4.2 - La PCR et les AFLP 34
II.5 - OBJECTIF DE L'ÉTUDE 36
III - MATÉRIEL ET MÉTHODES 38
III.1 - MATÉRIEL VÉGÉTAL 38
III.1.1 - Matériel végétal d'*Elaeis* oleifera 38
III.1.2 - Matériel végétal d'*Elaeis guineensis* 39
III.1.3 - Matériel végétal utilisé pour la détermination de la quantité d'ADN 41
III.1.4 - Autre matériel végétal 41
III.2 - MARQUEURS MOLÉCULAIRES 42
III.2.1 - Sondes 42
III.2.1.1 - Sondes hétérologues 42
III.2.1.2 - Sondes homologues d'ADN complémentaire 44
III.2.2 - Marqueurs de taille 44
III.2.3 - Marqueurs de migration internes 45

III.3 - MÉTHODES DE MARQUAGE 46
III.3.1 - Obtention de l'ADN 46
III.3.1.1 - Collecte et conditionnement du matériel végétal 46
III.3.1.2 - Extraction de l'ADN total 46
III.3.1.3 - Dosage de l'ADN 46
III.3.2 - La méthode RFLP 47
III.3.3 - La méthode AFLP 49
III.4 - DÉTERMINATION DE LA QUANTITÉ D'ADN NUCLÉAIRE 50
III.5 - TRAITEMENT DES DONNÉES 51
III.5.1 - Codage des données 51
III.5.2 - Analyse des données 52
III.5.2.1 - Estimation de la diversité génétique 52
III.5.2.2 - Analyse de la structuration de la diversité génétique 53
III.5.2.3 - Evaluation de la divergence entre populations ou entre groupes 55
III.5.2.4 - Visualisation de la structuration de la diversité génétique 55
IV - RESULTATS 57
INTRODUCTION 57
IV.1 - ORGANISATION DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DU PALMIER À HUILE AMÉRICAIN (*E. oleifera*) RÉVÉLÉE PAR LES MARQUEURS RFLP 59
Projet d'article 1 - **Genetic diversity of the American oil palm (*Elaeis oleifera* (H.B.K.) Cortés) revealed by nuclear RFLP markers** 59
IV.1.1 - Results 59
IV.1.1.1 - RFLP polymorphism 59
IV.1.1.2 - Genetic variation and structure at the species level 61
IV.1.1.3 - Genetic variation at population level in the Brazilian accessions 63
IV.1.2 - Discussion 66
IV.1.2.1 - *E. oleifera* genetic diversity 67
IV.1.2.2 - Genetic structuration at the species level 68
IV.1.2.3 - Genetic structuration at the Brazilian populations level. 69
IV.2 - EVALUATION DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DES PALMIERS À HUILE (*E.oleifera* et *E. guineensis*) À L'AIDE DE MARQUEURS RFLP ET AFLP 72
Projet d'article 2 - **Genetic diversity and genetic relationship between American *E. oleifera* and African *E. guineensis* oil palm, revealed by RFLP and AFLP molecular markers** 72
IV.2.1 - Results 72
IV.2.1.1 - Genetic information revealed by RFLP 72
IV.2.1.2 - Genetic information revealed by AFLP analysis 75
IV.2.2 - Discussion 76
IV.2.2.1 - Genetic diversity structuration 76
IV.2.2.2 - Intra species genetic divergence 78
IV.2.2.3 - Inter species genetic differenciation 79
IV.3 - RESULTATS COMPLEMENTAIRES 83
IV.4 - AUTRES ETUDES SUR LES GÉNOMES DU PALMIER À HUILE 87
IV.4.1 - Diversité génétique révélée par les génomes cytoplasmiques 87
IV.4.1.1 - Analyse du polymorphisme du génome chloroplastique 87
IV.4.1.2 - Analyse du polymorphisme du génome mitochondrial 88
IV.4.1.3 - Discussion 92

IV.4.2 - Diversité génétique révélée par les variations de l'ADN Ribosomique 96
IV.4.2.1 - Diversité de l'ADNr révélé par RFLP 96
IV.4.2.2 - Organisation de la diversité révélée par l'analyse de l'ADNr 97
IV.4.2.3 - Structuration de la diversité de l'ADNr chez l'*E. oleifera* 97
IV.4.2.4 - Discussion 99
IV.4.3 - Evaluation de la quantité de l'ADN nucléaire chez genre *Elaeis* 101
IV.4.3.1 - Resultats 101
IV.4.3.2 - Discussion 102
V - DISCUSSION GÉNÉRALE 104
V.1 - RAPPEL DES PRINCIPAUX RÉSULTATS 104
V.1.1 - Diversité du génome cytoplasmique 104
V.1.2 - Diversité du génome nucléaire 105
V.1.3 - Organisation de la diversité génétique chez l'espèce américaine *E. oleifera* 106
V.1.4 - Organisation de la diversité génétique chez l'espèce africaine *E. guineensis* 107
V.2 - L'APPORT DE DIFFÉRENTS TYPES DE MARQUEURS POUR L'ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE 108
V.3 - STRATÉGIES D'UTILISATION D'*E. oleifera* POUR L'AMÉLIORATION D'*E. guineensis* 111
V.4 - DIVERSITÉ ET RELATIONS ENTRE LES DEUX ESPÈCES : HYPOTHÈSES DE SPÉCIATION ET DIVERSIFICATION DANS LE GENRE *ELAEIS* 113
V.5 - "CORE COLLECTION" 118
V.5.1 - Caractérisation de la "core collection" constituée sur la collection de travail 118
V.5.2 - Constitution d'une "core collection" pour la collection d'*E. oleifera* brésilienne. 119
VI - CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 122
VII - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 124
VIII - ANNEXES 138

Liste d'abréviations

ADN	- Acide désoxyribonucléique
ADNc	- ADN complémentaire
ADNr	- ADN ribosomique
AFC	- Analyse factorielle des correspondances
AFLP	- Amplified fragment length polymorphism
AGETROP	- Laboratoire d'analyse du génome des plantes tropicales (CIRAD)
AP-PCR	- Anchored primed PCG
ARN	- Acide ribonucléique
BET	- Bromure d'éthidium
BIOTROP	- Unité de biotechnologies appliquées à l'amélioration des plantes tropicales (CIRAD)
CIMMYT	- Centre Internacional de mejoramiento de maíz e trigo (Méxique)
CIRAD	- Centre de coopération international en recherche agronomique pour le développement (France)
CIRAD-CP	- Département de cultures pérennes du CIRAD (Montpellier)
DAF	-DNA amplified fragment
DNA	- Desoxyribonucleic acid
EDTA	- Thylene diamine tetra acetate
EERU	- Estaçao Experimental de Dendê do Rio Urubu (Brésil)
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (Brésil)
ENSA.M	- Ecole nationale supérieure agronomique (Montpellier)
IDEFOR	- Institut des forêts de la Côte d'Ivoire
IGS	- intergenic spacer
IRHO	- Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux, depuis le 1er novembre 1992 intégré au CIRAD-CP (Montpellier)
INRA	- Institut National de la Recherche Agronomique (France)
ORSTOM	- Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (France)
PCR	- Polymerase chain reaction
QTL	- Quantitative trait loci
RAPD	- Random amplified polymorphic DNA
RFLP	- Restriction fragment length polymorphism
SAM	- Selection assistée par marqueurs
SCAR	- Sequence characterized amplified regions
SSR	- Simple sequence repeat
STMS	- Sequence tagged microsatelite site
STS	- Sequence tagged site
TAE	- Tris-acétate-EDTA
TBE	- Tris-borate-EDTA
TE	- Tris-EDTA
VNTR	- Variable number of tandem repeats

Liste des figures

Figure I.1 - Evolution de la part de l'huile de palme dans la production mondiale d'huiles et corps gras. 1

Figure II.1 - Distribution naturelle d'*E. oleifera*, d'*E. guineensis* et origine des individus étudiés de ces deux espèces. 5

Figure II.2 - Plantations et stations de recherche où les lignées femelles Dura descendant de 4 arbres Deli ont été sélectionnées. Dura Deli est la seule origine de géniteurs femelles d'*E. guineensis* actuellement utilisée pour la sortie variétale du palmier à huile (d'après Rosenquist, 1985). . . 10

Figure II.3 - Origine et base génétique de géniteurs mâles Pisifera d'*Elaeis guineensis* actuellement utilisés pour la sortie variétale du palmier à huile (d'après Rosenquist, 1985). 11

Figure II.4 - Schéma de sélection récurrente réciproque adaptée au palmier à huile (d'après Gascon, 1989).. 13

Figure II.5 - Localisation de refuges forestiers dans le bassin amazonien après les dernières glaciations du quaternaire selon Prance (Whitmore & Prance, 1987), établie à partir de données sur la répartition de quatre familles d'arbres tropicaux.. 19

Figure II.6 - Schéma d'organisation de l'ADNr du radis (d'après Delseny et al., 1990), montrant l'espaceur intergénique (IGS), les régions très conservées codants pour les ADNr 18S et 25S et la localisation des sites de restriction pour les enzymes *Eco* RI (E) et *Bam* HI (B).. 25

Figure II.7 - Organisation des gènes chloroplastiques d'épinard (Palmer, 1987).. 28

Figure II.8 - Mécanismes de recombinaison de molécules d'ADN mitochondrial avec la génération de molécules différents (Quétier et al., 1985). Les combinaisons entre les deux séquences **b** et **c** inversées (flip-flop), donnent des molécules de même taille avec l'inversion du segment entre ces deux répétitions inversées. La recombinaison entre deux répétitions non inversées **a** (loop-out) donne deux molécules subgénomiques de tailles différentes équivalentes à la distance qui sépare les deux répétitions.. 29

Figure III.1 - Localisation de la sous-unité pTA71e-b de 4,4 kb de la sonde pTA71 du blé sur l'ADNr du radis (d'après Delseny et al., 1990). Cette sonde a été utilisée pour évaluer les variations de la longueur de l'IGS chez les *Elaeis sp.*. 44

Figure IV.1.1a - Autoradiographies après hybridation avec des sondes homologues (*E. guineensis*) présentant du polymorphisme RFLP chez l'*E. oleifera*. 60

Figure IV.1.1b - Autoradiographies après hybridation avec des sondes hétérologues (cocotier, riz et maïs) présentant du polymorphisme RFLP chez *E. oleifera* originaire du Brésil. 61

Figure IV.1.1c - Autoradiographies showing RFLP scored as co-dominant markers. Band **A** being present in accession number 125 *E. oleifera* from Brazil origin, female ancestor of accession 302 F1 *E. oleifera* x *E. guineensis* hybrid. Band **B** present in accession number 252 *E. guineensis* male ancestor of 302. Band **B** was never revealed in *E. oleifera* accessions from Brazil by probe cPHO 65, and was never revealed in *E. oleifera* species. by probe cPHO 72. 62

Figure IV.4.1.1a - Autoradiographie obtenue après hybridation de la sonde chloroplastique **rbcL**, présentant une bande de 4,3 kb spécifique des individus d'Amérique Centrale. 88

Figure IV.4.1.1b - Autoradiographie obtenue après hybridation de la sonde chloroplastique **H 201**, présentant des bandes à faible intensité de 10,0 kb spécifique des individus du Pérou, de 7,3 kb spécifique des individus d'Amérique Centrale et d'Afrique. Ces deux bandes sont absentes chez les individus du Surinam et du Brésil. 88

Figure IV.4.1.2 - Relations génétiques dans les genres *Elaeis*, *Barcella* et *Cocos*. Dendogramme obtenu par la méthode UPGMA basée sur les distances de Dice estimées à l'aide de 17 marqueurs RFLP révélés par 4 sondes mitochondriales. 90

Figure IV.4.1.3 - AFC sur 12 bandes RFLP révélées par 4 sondes mitochondriales sur 241 individus d'*E. oleifera* et 38 individus d'*E. guineensis*. Plan 1-2 représentant 60 % de la variabilité totale. 92

Figure IV.4.1.4 - Distribution de types mitochondriaux parmi les populations d'*E. oleifera* d'origine brésilienne. 93

Figure IV.4.2.1 - Divergence génétique entre les différents profils d'ADNr identifiés par RFLP chez 4 espèces de Palmacées. Arbre constuit par la méthode UPGMA à partir de l'indice de Dice entre profils, pour 9 bandes RFLP polymorphes. 98

Figure IV.4.2.2 - Représentation de la structuration de la diversité de l'ADNr. Plan 1-2 de l'AFC réalisé sur les 13 types d'ADNr, présentant 9 bandes RFLP polymorphes identifiés chez 241 individus d'*E. oleifera* et 38 individus d'*E. guineensis*. 99

Figure IV.4.2.3 - Distribution de types d'ADNr parmi les populations d'*E.oleifera* d'origine brésilienne. 100

Figure V.4.1 - Evolution de la variabilité dans la "core collection" d'*Elaeis oleifera* choisie parmi la collection de base de l'EMBRAPA/Brésil. Stratégie PCSS sur 46 allèles et 153 individus. . . 121

Liste des tableaux

Tableau II.1 - Production mondiale de semences de palmier à huile en 1997 : quantité par pays producteur et base génétique. 12

Tableau II.2 - Composition en acides gras des principales huiles végétales. 15

Tableau II.3 - Valeurs de différents caractères agronomiques chez les espèces *E. guineensis*, *E.oleifera* et leurs hybrides. 15

Tableau II.4 - Caractères biologiques et cytologiques chez les espèces *E. guineensis*, *E. oleifera* et leurs hybrides. 16

Tableau II.5 - Paramètres de diversité génétique estimés sur des espèces pérennes. 18

Tableau III.1a - Matériel végétal utilisé pour l'étude de la diversité génétique du palmier à huile (*Elaeis spp.*). 40

Tableau III.1b - Liste des populations d'*E. oleifera* originaires du Brésil. 41

Tableau III.2 - Liste du matériel végétal utilisé pour la détermination de la quantité d'ADN nucléaire sur le palmier à huile (*E. oleifera* et *E. guineensis*), par cytométrie en flux. 42

Tableau III.3 - Sondes homologues et hétérologues d'ADNc testées et utilisées pour l'étude de diversité génétique du palmier à huile (*Elaeis spp.*). 43

Table IV.1.1 - Gene diversity (Nei, 1973) revealed by 248 nuclear RFLP dominant markers on 241 *E. oleifera* accessions. 59

Table IV.1.2 - Genetic variability by groups of *E. oleifera* revealed by nuclear RFLP co-dominant markers over 19 loci. 59

Table IV.1.3 - Genetic divergence among *Elaeis oleifera* groups revealed by Nei's unbiased genetic distance and Fst based on nuclear RFLP allelic data. 59

Table IV.1.4 - Genetic diversity partitioning of *E. oleifera* revealed by nuclear RFLP scored as alleles. 63

Table IV.1.5 - Genetic diversity of Brazilian populations of *E. oleifera* revealed by nuclear RFLP scored as alleles and bands. 63

Table IV.2.1 - Genetic diversity index (Nei, 1973) revealed by 278 nuclear RFLP bands revealed by 37 cDNA probes on 241 *E. oleifera* accessions and 38 accessions of *E. guineensis*. 73

Table IV.2.2 - Genetic divergence between groups revealed by using Nei's UGD estimated with 248 nuclear RFLP dominant markers revealed by 37 cDNA probes over 241 accessions of *E. oleifera* and 38 accessions of *E. guineensis* and with 169 AFLP markers revealed by 3 primer/enzyme combinations over 44 accessions of *E. oleifera* and 22 accessions of *E. guineensis*. 73

Table IV.2.3 - Genetic diversity parameters estimated by using 169 AFLP markers revealed by 3 primer/enzyme combinations over 44 accessions of *E. oleifera* and 22 accessions of *E. guineensis*. 74

Tableau IV.3.1 - Allèles en commun entre les groupes géographiques de palmiers à huile, révélés sur 19 locus RFLP chez 241 individus d'*E. oleifera* et 38 individus d'*E. guineensis*. 83

Tableau IV.3.2 - Distribution d'allèles révélés par RFLP sur 19 locus chez 36 populations d'*Elaeis oleifera* Brésil, Guyane, Amérique Centrale, Pérou et Surinam. 84

Tableau IV.3.3 - Diversité génétique chez *E. oleifera* révélée par l'analyse des marqueurs RFLP nucléaires codés en allèles (codominant) et en bandes (dominant). 84

Tableau IV.3.4 - Distances génétiques non biaisées de Nei (Nei, 1978), estimées entre 36 populations d'*E. oleifera* selon la fréquence d'allèles sur 19 locus RFLP. 85

Tableau IV.3.5 - Divergence génétique entre groupes d'*E. oleifera* et relation avec l'*E. guineensis*, révélée par l'analyse de 77 allèles sur 19 locus RFLP. 86

Tableau IV.4.1.1 - Distribution des bandes et des types chloroplastiques révélés par les sondes chloroplastiques **rbcL** et **H 201** chez le genre *Elaeis* et genres voisins : *Barcella* et *Cocos*. . . 87

Tableau IV.4.1.2 - Distribution de bandes et de mitotypes dans le genre *Elaeis* et genres voisins : *Barcella* et *Cocos* révélés avec 4 sondes RFLP hétérologues. 89

Tableau IV.4.1.3 - Distances génétiques de Dice estimées avec 17 bandes RFLP mitochondriales révélées par 4 sondes chez le genre *Elaeis* et genres voisins : *Barcella* et *Cocos*. 90

Tableau IV.4.2.1 - Types de ADNr détectés par la sonde 4,4 kb sur le génome du genre *Elaeis* et genres voisins : *Barcella* et *Cocos*. 97

Tableau IV.4.2.2 - Distribution de types de ADNr chez le genre *Elaeis*, révélés par la sonde 4,4 kb. 98

Tableau IV.4.3.1 - Comparaison de la taille du génome de diverses origines de l'*E. oleifera* et d'*E. guineensis*, déterminée par cytométrie en flux. 101

Tableau V.4.1 - Liste des individus choisis par la méthode PCSS basée sur la fréquence de 59 allèles sur 19 locus RFLP, pour constituer une "core collection" sur les 226 individus de la collection de base d'*E. oleifera*. 119

Tableau V.4.2 - Liste des individus choisis par la méthode PCSS basée sur la fréquence de 46 allèles sur 19 locus RFLP, pour constituer une "core collection" sur les 153 individus de la collection de base d'*E. oleifera* originaire du Brésil. 120

Liste des photos

Photo I.1 - Vue d'une plantation de palmiers à huile (*Elaeis guineensis*), attaquée par la maladie de la "pourriture du coeur", au Brésil. 1

Photo II.1a - Fruits mûrs d'*Elaeis guineensis* variété *Tenera*.. 6

Photo II.1b - Types de fruits d'*E. guineensis* selon l'épaisseur de la coque. La présence/absence de la coque a une hérédité mendélienne simple (monogénique).. 6

Photo II.2 - Inflorescences et régimes d'*Elaeis oleifera*. 7

Photo II.3 - L'hybridation interspécifique *E. oleifera* x *E. guineensis*. 13

Liste des annexes

Annexe 1 - Liste de matériel botanique utilisé pour l'étude de la diversité génétique du palmier à huile *E. oleifera* et *E. guineensis*

Annexe 2 - Protocole d'extraction d'ADN total de palmier à huile

Annexe 3 - Protocole pour la restriction enzymatique de l'ADN total de palmier à huile

Annexe 4 - Protocole pour la migration et le transfert d'ADN sur membrane de nylon chargée

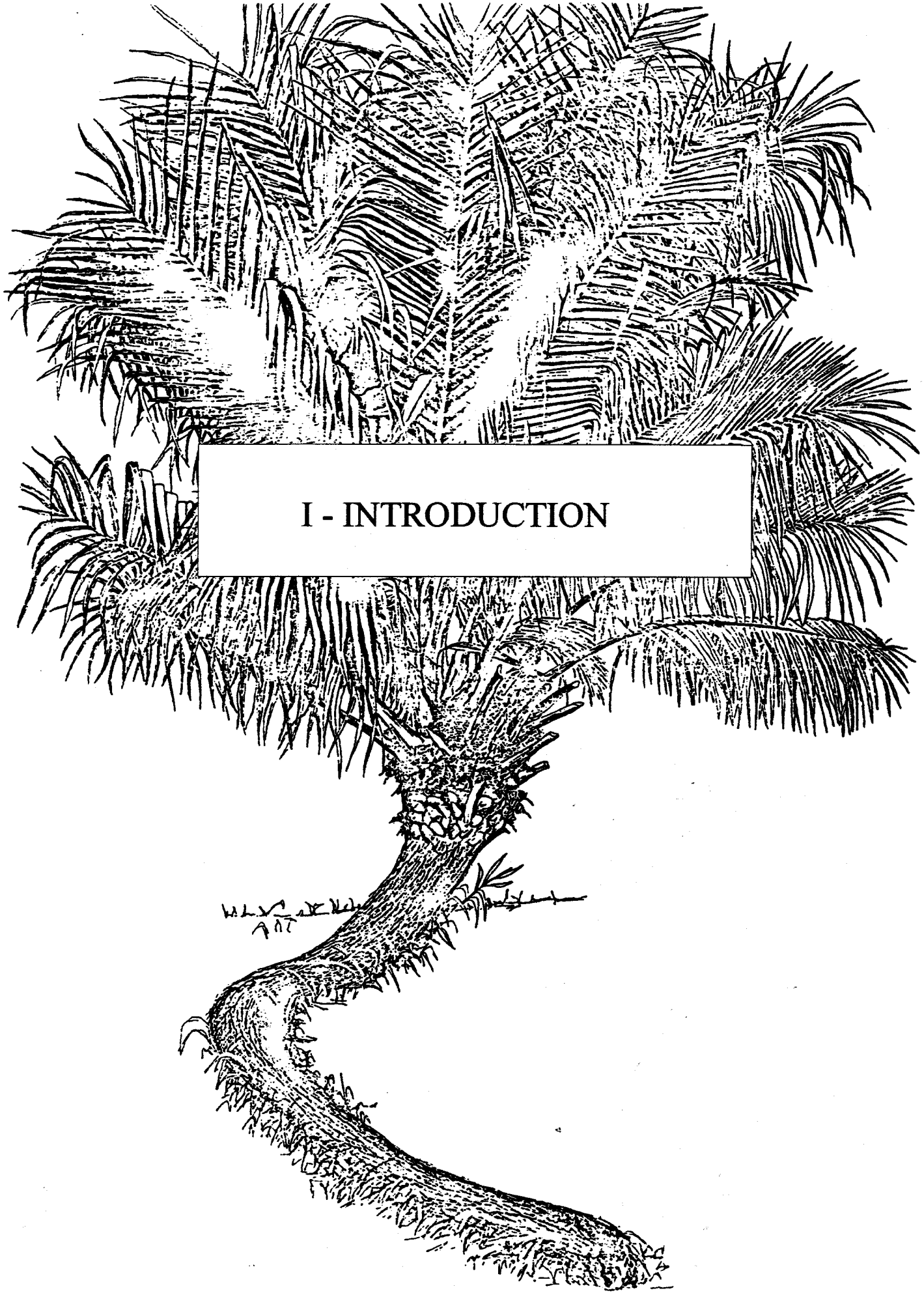
Annexe 5 - Protocole pour l'amplification des sondes par PCR

Annexe 6 - Protocole détaillé pour les diverses étapes de l'hybridation RFLP

Annexe 7 - Protocole pour la réalisation des AFLP

Annexe 8 - Texte de la communication présentée au Séminaire : EVOLUTION, VARIATION, AND CLASSIFICATION OF PALMS, 18-20 June 1997, Snuff Mill, New York Botanical Garden, USA. Memoirs of the New York Botanical Garden, sous presses.

I - INTRODUCTION



Elaeis oleifera (H.B.K.) Cortés - CAIAUÉ

Photo I.1 - Vue d'une plantation de palmier à huile (*Elaeis guineensis*), attaquée par la maladie de la "Pourriture du coeur", au Brésil.

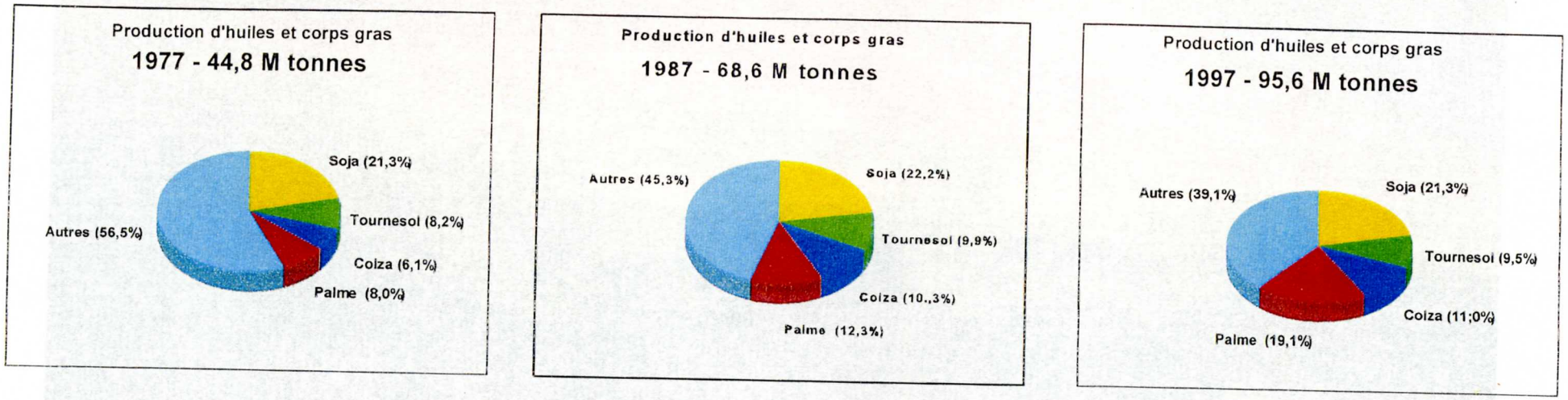


Figure I.1 - Evolution de la part de l'huile de palme dans la production mondiale d'huiles et corps gras
(FAOSTAT Database)

I - INTRODUCTION

Le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacquin) est, parmi les plantes oléagineuses, celle qui fournit le rendement le plus élevé en matières grasses par hectare. Dans des conditions écologiques favorables, des productions de plus de 6 tonnes d'huile par hectare/an peuvent être atteintes (Escobar *et al.*,1996 ; Hee, 1996 ; Pamin *et al.*, 1986 ; Rajanaidu et Jalani ,1996 ; Sharma et Pau, 1996 ; Weng et Shamsuddin, 1996 ; Yuan et Weng, 1996).

Domestiqué en Afrique, le palmier à huile a été dispersé dans le monde tropical, à partir du 17ème siècle, par le commerce triangulaire des esclaves pratiqué par les pays colonisateurs européens. Introduit en Asie au 19ème siècle, il a vu son essor économique au début du 20ème siècle, dans les pays asiatiques (Malaisie et Indonésie) aujourd'hui responsables de plus de 90% de la production mondiale d'huile de palme et de palmiste (Oil World 1997). La production mondiale de l'huile de palme a été de 18,2 millions de tonnes en 1997 et, aujourd'hui, le palmier contribue à fournir 19% de la production mondiale de corps gras, juste derrière le soja (Oil World 1997). Cette production est d'ailleurs en pleine expansion et elle a plus que doublé dans les vingt dernières années (Figure I.1). C'est la culture pérenne qui occupe une des plus importantes surfaces cultivées dans les régions tropicales humides, avec 5,2 millions d'hectares en production en 1997 sur trois continents, en Asie du sud-est, en Afrique, et en Amérique Tropicale (Oil World 1997).

En Amérique tropicale, cultivé depuis son introduction par les esclaves, le palmier à huile africain est actuellement menacé par plusieurs ravageurs et maladies, en particulier par la "pourriture du coeur" (Photo I.1), maladie létale et d'étiologie inconnue, qui, depuis son apparition en Colombie en 1963, a entraîné la destruction totale de plantations. Aujourd'hui, cette maladie est aussi présente dans des plantations du Pérou, de l'Equateur, du Brésil, du Surinam, du Venezuela et du Panama.

Les programmes d'amélioration génétique du palmier à huile conduits actuellement dans cette région, s'intéressent surtout à la résistance à cette maladie. Malgré les efforts de recherche depuis plus d'un quart de siècle, les connaissances sur la "pourriture du coeur" sont encore très limitées. Jusqu'à aujourd'hui, les chercheurs n'ont pas détecté sur l'espèce africaine de source de

résistance à cette maladie. La seule connaissance solide sur le sujet, c'est le comportement remarquable de l'espèce sauvage de palmier *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés vis-à-vis de cette maladie (Amblard *et al.* 1995 ; Hartley 1988). Espèce exclusive du continent américain, et sans valeur commerciale car elle présente une très faible production d'huile, l'*E. oleifera* est une ressource génétique pour l'amélioration du palmier à huile, d'autant plus intéressante que l'hybridation entre les deux espèces est aisée. Outre une résistance remarquable à la pourriture du coeur, transmise aux descendances hybrides entre les deux espèces, on trouve d'autres caractères d'intérêt, tels qu'une meilleure qualité d'huile, un taux de croissance faible et une bonne tolérance à certains ravageurs et à d'autres maladies (Hardon et Tan, 1969 ; Hardon ,1969 ; Meunier et Hardon, 1976 ; Meunier *et al.*, 1976 ; Hartley, 1988)

L'objectif premier de ce travail était d'obtenir des informations sur la diversité génétique et sa structuration au niveau de populations d'*E. oleifera* représentant l'aire de distribution de l'espèce. L'étude de la diversité génétique de cette espèce de palmier à huile américaine s'inscrit dans l'approche de leur utilisation par les programmes d'amélioration du palmier à huile africain. Les relations génétiques entre les origines d'*E. oleifera* et l'espèce africaine *E. guineensis* seront aussi analysées.

Cette étude s'appuie sur le matériel végétal existant en collection sur les stations du Rio Urubu/EMBRAPA/Brésil et La Mé/IDEFOR/Côte d'Ivoire. Les marqueurs utilisés ont été, d'une part, les RFLP nucléaires et cytoplasmiques, et d'autre part, les AFLP, à partir d'analyses réalisées par un laboratoire de service.

Une présentation bibliographique générale sur les espèces de palmier à huile et sur l'utilisation des ressources génétiques constitue la PARTIE II, suivie de la description des matériels et méthodes faite à la PARTIE III.

Les résultats obtenus selon les approches choisies seront présentés et discutés en PARTIE IV :

IV.1 - Organisation de la diversité génétique chez l'espèce américaine révélée par RFLP

IV.2 - Diversité génétique d'*E. oleifera* et d'*E. guineensis* étudiée par RFLP et AFLP

IV.3 - Résultats des analyses RFLP complémentaires aux articles

IV.4 - Autres études sur les génomes du palmier à huile

1 - Diversité génétique au niveau des génomes du cytoplasme par la technique RFLP

2 - Diversité génétique de l'ADN ribosomique chez le genre *Elaeis*

3 - Evaluation de la quantité de l'ADN nucléaire chez le genre *Elaeis*.

Finalement, une discussion générale est présentée en PARTIE V. Les perspectives offertes par ce travail seront présentées en PARTIE VI. La constitution d'une core collection pour la collection d'*E. oleifera* de l'EMBRAPA/Brésil est proposée.