

Introduction

Depuis une dizaine d'années, l'utilisation intensive des marqueurs moléculaires a modifié, voire bouleversé, de nombreux secteurs de la biologie. Il définit les concepts, explicite les techniques nécessaires pour appréhender et utiliser cet un outil il devient irremplaçable. Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires tels que: le RAPD, RFLP, DGGE...etc. Le choix d'utilisation de marqueurs moléculaire dépend essentiellement de la nature du problème génétique à traiter, les techniques des marqueurs moléculaires sont très importantes et appliqué sur plusieurs plantes comme le palmier dattier.

En Algérie, chaque palmeraie possède une composition variétale qui lui est propre, résultant d'une sélection locale au sein d'une oasis déterminé. Un répertoire des variétés Algériennes de palmier dattier a été édité récemment. La liste de 1000 cultivars inventoriés est fournie selon une base de données, préalablement conçue selon les enquêtes et les caractères du fruit et de la graine. L'étude de la variabilité inter- et intra-populations des cultivars principaux déterminée sur la base des marqueurs morphologiques (fruit, palmes, inflorescences). Maintenant on utilise les marqueurs moléculaires pour identifier le polymorphisme et connaître la phylogénie moléculaire de palmier dattier.

Cette étude porte sur

- 1-Les différents types de marqueurs moléculaires
- 2-Généralité sur le palmier dattier
- 3-L'application de la technique du RAPD sur le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L.

Chapitre I: les différents types de marqueurs moléculaires

1-Définitions

La découverte des marqueurs Moléculaires du génome remonte aux années 1985-1990, un marqueur moléculaire peut être défini comme une étiquette au niveau de la molécule d'ADN, étiquette qui va ségréger comme un gène, avec différents allèles (Berville et *al.*, 1994).

Un polymorphisme d'ADN pouvant être facilement détecté par l'analyse moléculaire ou phénotypique. Le marqueur peut se trouver dans un gène ou dans l'ADN sans aucune fonction connue. Les segments d'ADN, qui se trouvent proches l'un de l'autre sur un chromosome, ayant tendance à être hérités ensemble, les marqueurs sont souvent utilisés en tant que hérédité d'un gène qui n'a pas encore été 'moyens indirects pour tracer le modèle d'identifié, mais dont l'emplacement approximatif est connu (Susan et *al.*, 2003).

Les marqueurs moléculaires correspondent à des différences nucléotidiques existant au niveau de la molécule d'ADN, des techniques de biologie moléculaire permettent de révéler ce polymorphisme de séquences. Ces différences entre allèles peuvent correspondre à des mutations ponctuelles, des réarrangements chromosomiques ou des mutations silencieuses, elles peuvent se trouver dans des régions codantes ou non codantes (Samouelian et *al.*, 2009).

Un marqueur moléculaire au niveau de ADN sont en nombre quasiment illimité et sont indépendants du stade de développement ou de l'organe analysé, certaines techniques de marquage révèlent des marqueurs moléculaires de façon individuelle une réaction produit alors un seul marqueur (microsatellites) d'autres techniques révèlent des marqueurs en masse une réaction fournit alors plusieurs marqueurs (Tagu et *al.*, 2003).

2-Les critères de classification

2-1-Sur le plan moléculaire

On peut classer le polymorphisme en trois catégories: le polymorphisme de séquence, d'insertion-délétion, et de nombre d'unités de répétitions dans les régions répétées, il existe par de techniques développées spécifiquement pour le polymorphisme d'insertion-délétion qui est de toute façon révèle par les techniques de mise en évidence du polymorphisme de séquence, nous considérons donc d'une part les variations de séquence en mentionnant le cas échéant les variations d'insertion-délétion d'autre part les variations de nombre d'unités de répétitions (Vienne et *al.*, 1998).

2-2-Sur le plan génétique

On peut considérer d'une part les techniques fournissant des marqueurs codominants et révélés individuellement d'autre part celles qui fournissent en «masse» des marqueurs dominants cette séparation est certes simplificatrice mais elle correspond tout de même à deux types majeurs d'utilisation des marqueurs (Vienne et *al.*, 1998).

3-Les différents types des marqueurs moléculaires

La recherche de polymorphisme d'un génome est une approche en plein essor qui voit chaque année de nouvelles technique se développer, chacune d'elle présente des avantages et des inconvénients et le choix d'utilisation dépende essentiellement de la nature du problème génétique à traiter (Primose et *al.*, 2004). (Tableau, 01) (Figure, 01)

Tableau (1): Classification des techniques de marquage moléculaire (Vienne, 1998).

Critère génétique	Critère moléculaire	Critère moléculaire
Codominants et révélés individuellement	Séquence (et insertion – délétion) Différence Recherchée Technique Site d'enzyme -RFLP De restriction (ER) -PCR cible puis CAPS Conformation PCR cible Puis SSCP Stabilité PCR ciblé Puis D/TGGE	Nombre de répétions dans les ADN répètes Taille de l'unité Technique De répétions 1a4 nucléotides PCR (microsatellites) ciblée Pui électrophorèse en acrylamide on agarose
Dominants et révélés "en masse" (empreintes génétiques)	Site d'hybridation MAAP: d'une amorce -RAPD arbitraire -AP-PCR -DAF sites ER et amorce -AFLP arbitraire -tec MAAP	1à 4 nucléotides ISSR (microsatellites) (amorce microsatellite +quelques bases arbitraires) 5à >100 nucléotides (minisatellite) sonthern avec sonde minisatellite

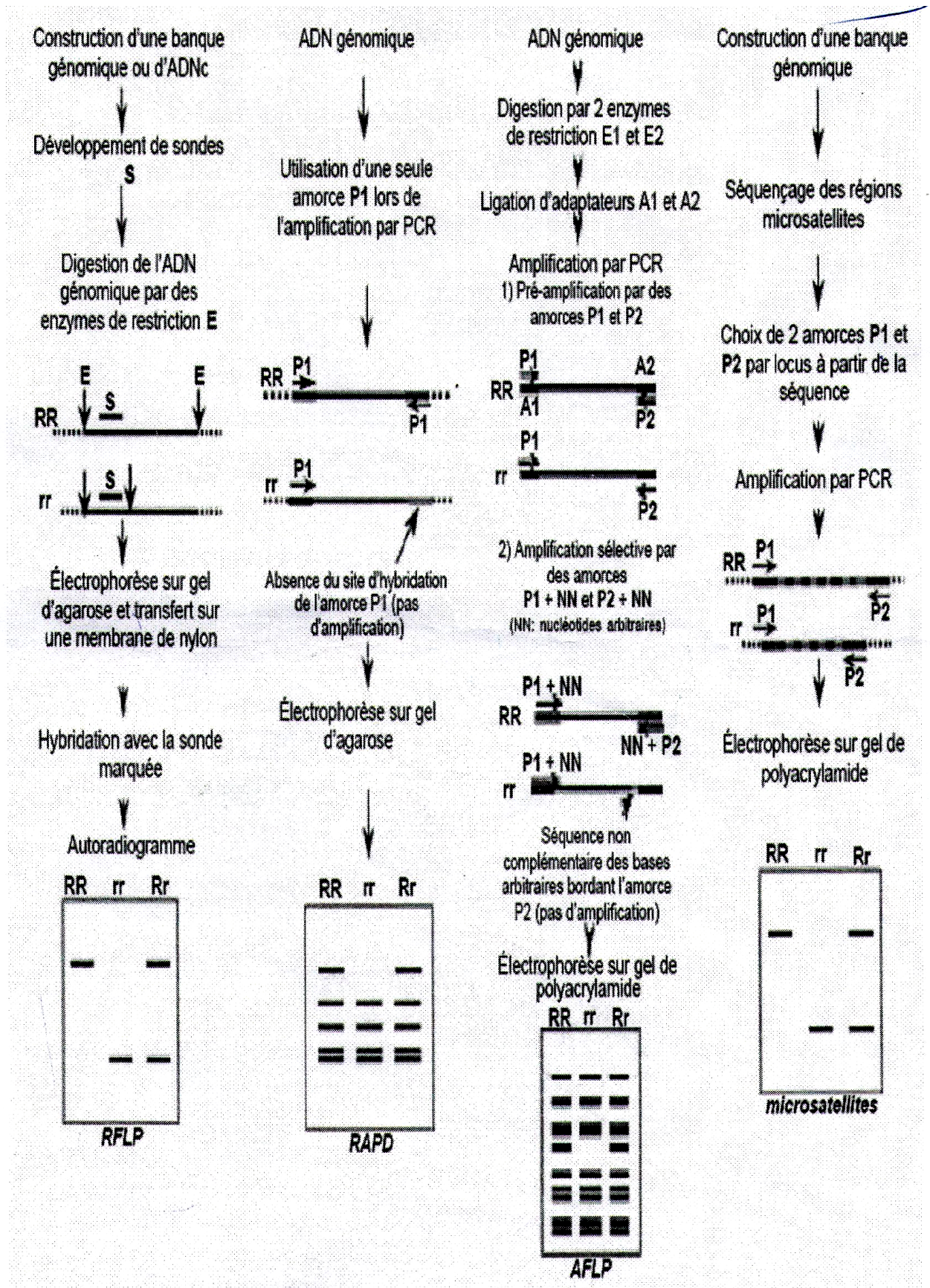


Figure (1): Comparaison des principales techniques de marquage moléculaire (Trifi, 1996).

3-1-SSR: Microsatellites

Les microsatellites, également appelé SSR (Simple Séquence Répétas), sont des séquences présents dans les génomes et sont très utilisés comme marqueurs moléculaires de par leur simplicité et leur grande répartition dans les génomes des espèces eucaryotes (Tagu et *al.*, 2003).

Les Marqueurs microsatellites sont spécifiques d'un locus et lies a la présence de répétitions en tandem formées de motifs de 1 à 6 nucléotide (Samouelian et *al.*, 2009). Les tandems de motifs mono-, di-, tri-, ou tétranucléotidique à différents locus de tels motifs sont très abondants et très polymorphes dans le génome des eucaryotes(Vienne,1998).

La particularité des microsatellites vient de leur utilisation pour la recherche de polymorphisme entre individus (Tagu et *al.*, 2003).

Leur distribution sur l'ensemble du génome ce qui fait l'intérêt des microsatellites en génétique est leur polymorphisme extrêmes élevé, il s'agit ici d'un polymorphisme de nombre d'unités de répétitions (Vienne, 1998).

L'utilisation des microsatellites comme marqueur moléculaires repose sur trois étapes essentielles: et caractérisation des microsatellites, conception d'amorces spécifiques et recherche de polymorphisme de taille entre individus (Tagu et *al.*, 2003).

3-2-Minisatellite

Il s'agit de séquences répétées en tandem au même site découvertes par Jeffrey (1985) le nombre de répétitions varie d'un individu à l'autre et constitue un allèle la variation modifiant simultanément et de façon homothétique la carte de restriction de plusieurs enzymes (Kaplan et *al.*, 2007).

Les minisatellites hypervariables sont extrêmement polymorphes tant du point de vue du nombre de répétitions que de la taille des unités répétées les minisatellites courtes (10 à 100 nucléotide) des séquences en tandem, qui ont le même intérêt dans les études génétiques du fait de leur polymorphisme (Etienne et *al.*, 2004).

Les minisatellites de même structure générale que les microsatellites, se distinguent par la longueur de l'unité de répétitions qui peut être de plusieurs dizaines de bases ils reposent sur la variation du nombre de répétitions en tandem (VNTR) (Miller et *al.*, 2002).

3-3-AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

La technique d'AFLP a été introduite en 1993, son principe repose sur l'amplification sélective de fragments de restriction générés à partir d'un échantillon d'ADN génomique cette technique permet la recherche de polymorphisme de longueur de fragment de restriction au niveau de l'ADN (Tagu et *al.*, 2003).

Les marqueurs AFLP sont une sorte de combinaison entre marqueurs RFLP et marqueurs RAPD, aux premiers ils empruntent la digestion enzymatique et la détection par autoradiographie et aux seconds l'amplification *in vitro* à partir d'amorces aléatoires (Samouelian et *al.*, 2009).

Pour l' AFLP, qui est plus sophistiquée ce qui se passe est mieux contrôlé le principe de base est le suivant l'ADN est d'abord digère par deux enzymes de restriction à sites de reconnaissance de 6 et 4 bases (Vienne, 1998).

Selon Vienne (1998), AFLP connaît un engouement croissant en tant que technique d'empreintes génétiques en raison du nombre élevé de bandes polymorphes qu'elle fournit et de la qualité des profils produits par l'acrylamide.

Un marqueur AFLP est caractérisé par un ensemble spécifique de fragments de restriction amplifiés et il est défini par la combinaison des deux enzymes de restriction et des amorces arbitraires utilisées, la technique AFLP se prête à l'identification de variétés accessions biotypes ou cultivars mais aussi à l'établissement de cartes génétiques (Samouelian et *al.*, 2009).

3-4-RFLP: Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction

Les premiers marqueurs utilisés ont été les polymorphismes de restriction, RFLP cette technique permet de comparer les ADN de différents individus et de recherche si des mutations ponctuelles faisant apparaître ou disparaître des sites de restriction se produite (Kamoun et *al.*, 2003).

Le principe des RFLP est basé sur le polymorphisme de taille de fragments d'ADN lié aux mutations moléculaires produites aux sites de restriction enzymatique entre les différents individus d'une espèce (Sezonlin, 2006) (Figure, 02)

Les étapes de la technique, La technique (simplifiée) de RFLP comporte les étapes suivantes, l'extraction de l'ADN des différents génotypes à analyser, digestion de l'ADN par un enzyme de restriction, et les fragments engendrés sont séparés selon leur taille par un électrophorèse en gel d'agarose, et l'ADN est transféré sous forme dénaturée sur une membrane de nylon, la

position relative des fragments d'ADN est préservée durant le transfert, la membrane est incubée en présence d'une solution contenant une sonde marquée préalablement, soit par la radioactivité soit chimiquement (Vienne, 1998).

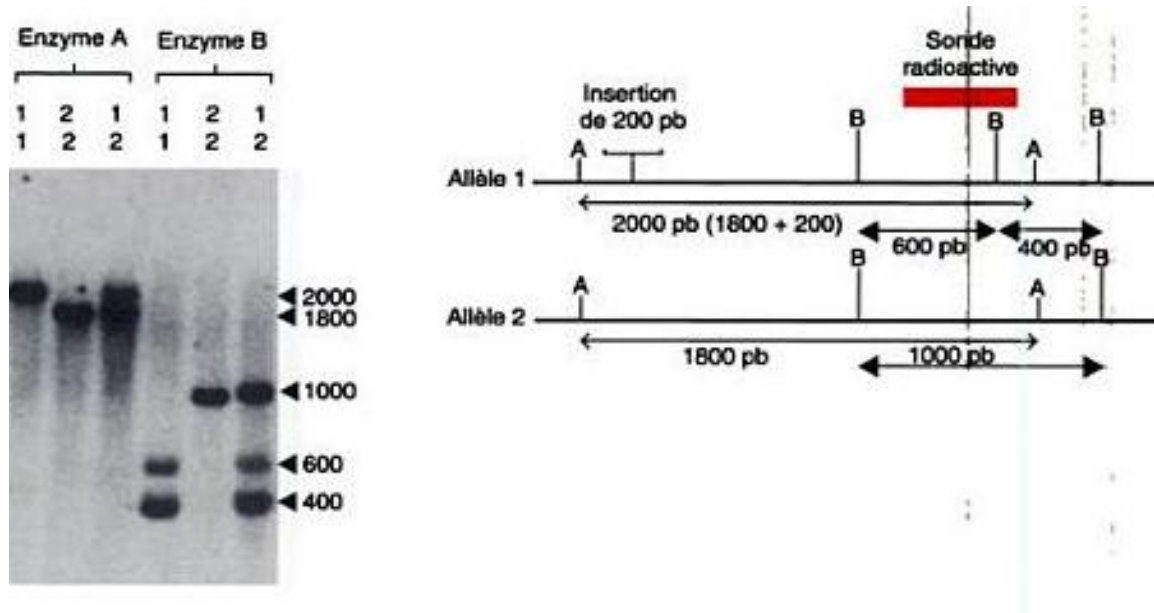


Figure (2): Principe de l'RFLP (Pitel et *al.*, 2000).

3-5-DGGE: Electrophorèse de l'ADN en Gradient de Gel Dénaturant

La technique DGGE (Dénaturation Gel Gradient Electrophorèses), permet la détection de polymorphismes ou de mutations de l'ADN très fins même lorsqu'une seule paire de bases est substituée dans un fragment d'ADN elle est applicable à des fragments de plusieurs centaines de paires de bases et ne nécessite pas une connaissance préalable du site polymorphe (Tagu et *al.*, 2003).

la DGGE ne permet pas d'analyser toutes les molécules il faut qu'elles contiennent au moins deux domaines de stabilité différente le plus stable retirant l'ouverture totale de la molécule. La recherche de mutations dont le profil en DGGE est déjà connue mais ce n'est pas le moyen le plus rapide, (Berville et *al.*, 1994).

3-6-RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA

Le marqueur moléculaire RAPD (Random Amplified Polymorphisme DAN) méthode d'amplification aléatoire de fragment d'ADN polymorphes au seront ensuite séparés puis identifier en électrophorèse (Cailliez, 2004). La description en 1990 de la technique d'obtention de RAPD a ajouté un type de marqueur moléculaire utilisable pour des études génétiques à ceux déjà existants (Berville, 1994).

La technique RAPD met en jeu des amorces arbitraires courtes d'une longueur d'environ 10 nucléotides ces amorces arbitraires s'hybrident dans des conditions de faible astringence, le nombre de fragments amplifiés possible peut être évalué en considérant une répartition aléatoire des nucléotides, ce nombre dépend de la taille du génome de la longueur de l'amorce et de la longueur maximale des impliquons détectables (Samouelian *et al.*, 2009).

Le marqueur RAPD lors d'une recherche de polymorphisme d'un génome si aucune séquence d'ADN précise n'est ciblée il est possible d'utiliser des oligonucléotides de petite taille (de 6 à 9 bases) de séquence aléatoire qui vont se fixer sur l'ADN cible, l'utilisation de la PCR permet d'obtenir des produits d'amplification de séquence inconnue (Tagu *et al.*, 2003).

3-6-1-Principe de la RAPD-PCR

Comme la PCR, la RAPD est basée sur la réplication d'ADN double brin. Alors que la PCR classique nécessite deux amorces oligonucléotidiques dont les séquences sont complémentaires des segments encadrant le fragment, la RAPD-PCR nécessite seulement la présence d'une amorce unique choisie au hasard (random). Cette amorce joue à la fois le rôle d'amorce sens et antisens, Il existe donc un nombre très important d'amorces qui peuvent être utilisées en RAPD, et permettant d'amplifier simultanément différentes parties d'un génome (Walton *et al.*, 1999).

3-6-2-PCR: Réaction de Polymérisation en Chaîne

La PCR fut décrite en 1985 par Kary Mullis (Haicour, 2002). Le clonage de fragments d'ADN à des fins de séquençage était autrefois un processus relativement laborieux cependant une technique *in vitro* appelé la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) a été développée pour fabriquer en grande quantité n'importe quelle séquence d'ADN sans passer par le clonage mais en utilisant des banques de gènes (Susan *et al.*, 2003).

La technique de PCR ou APC (amplification par polymérisation en chaîne) consiste en une synthèse spécifique d'ADN de façon répétitive et exponentielle *in vitro* (Samouelian et *al.*, 2006). Selon Primrose et *al* (2004) Dans de nombreux d'applications de la PCR à la manipulation de gènes, l'énorme facteur d'amplification n'est qu'un objectif secondaire par rapport à la. Cette technique impose de connaître la séquence des deux régions qui délimitent le segment d'ADN à amplifier, connaissant chacune de ces deux séquences on synthétiser a deux oligonucléotides chacun complémentaire d'un des deux brin aux deux extrémités à amplifier (Etienne et *al.*, 2004).

3-6-3-Principe de la Technique PCR

La Polymérase Chain Réaction (PCR) est une méthode *in vitro* d'amplification de séquences spécifiques d'ADN. La première PCR a été décrite par K. Leppe et al. En 1971 Il a fallu ensuite attendre 1983 pour voir reparaître la PCR dans les travaux de Kary Mullis Tout le monde s'accorde à dire aujourd'hui que la PCR est une technique biologique des plus puissantes et utiles (Walton et *al.*, 1999).

L'une des propriétés de toutes les ADN polymérases est de ne pouvoir synthétiser le brin complémentaire qu'à partir d'une amorce, cette propriété qui complique considérablement pour la cellule le processus de la réplication est indispensable à la stabilité de l'information cellulaire (Kaplan et *al.*, 2007). (Figure, 03)

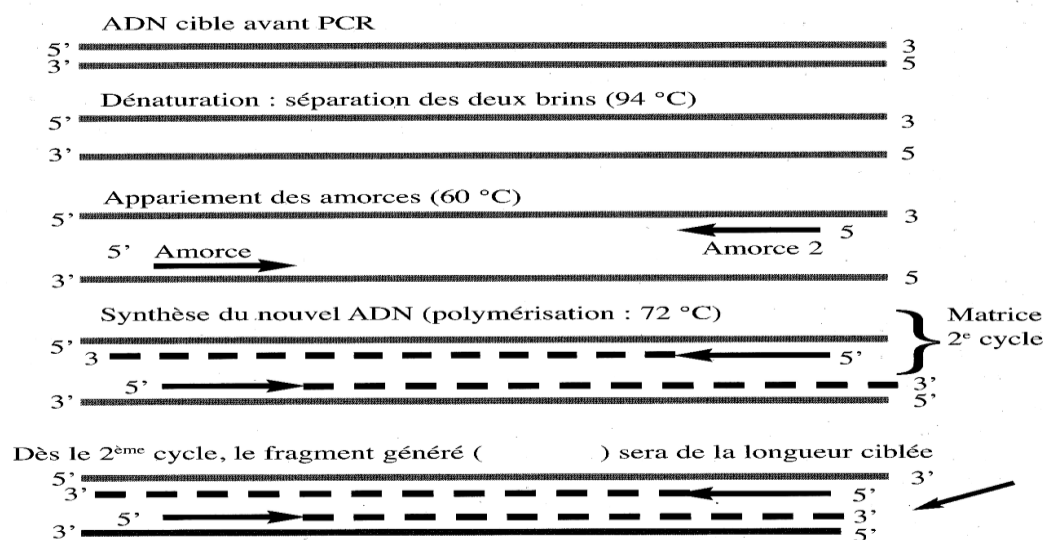


Figure (3): Principe de la technique PCR (Haicour, 2002).

4-Application des cartes de marqueurs moléculaires

L'objectif de l'analyse cartographique d'une espèce est de disposer d'une carte intégrant les cartes génétiques, physique et cytogénétique, les cartes de marqueurs moléculaires sont utilisées dans deux grands types d'approches: d'une part la caractérisation et l'isolement de gènes végétaux une application à l'analyse phylogénétique des végétaux ainsi qu'une application à la sélection variétale assistée par marqueur s'illustreront les premiers types d'approches tandis que le clonage positionnel et la localisation de QTL (Quantitative Trait Loci) illustreront les secondes (Samouelian et *al.*, 2009).

Chapitre II: Généralité sur le palmier dattier

1-Définition

Le palmier dattier comme le précise son nom appartient à une grande famille d'arbres à palmes et produit des dattes, le palmier dattier est aussi date palm en anglais (Peyron, 2000). Palmier dattier arbre à tronc (appelé stipe) de 10 à 30m, cylindrique jamais ramifié mais émettant à sa base des rejets qui servent à multiplier l'espèce par bouturage (Ozendp, 2004).

Le palmier dattier est une espèce dioïque diploïde ($2n=36$) (Boughdiri, 1985). (Figure, 04)

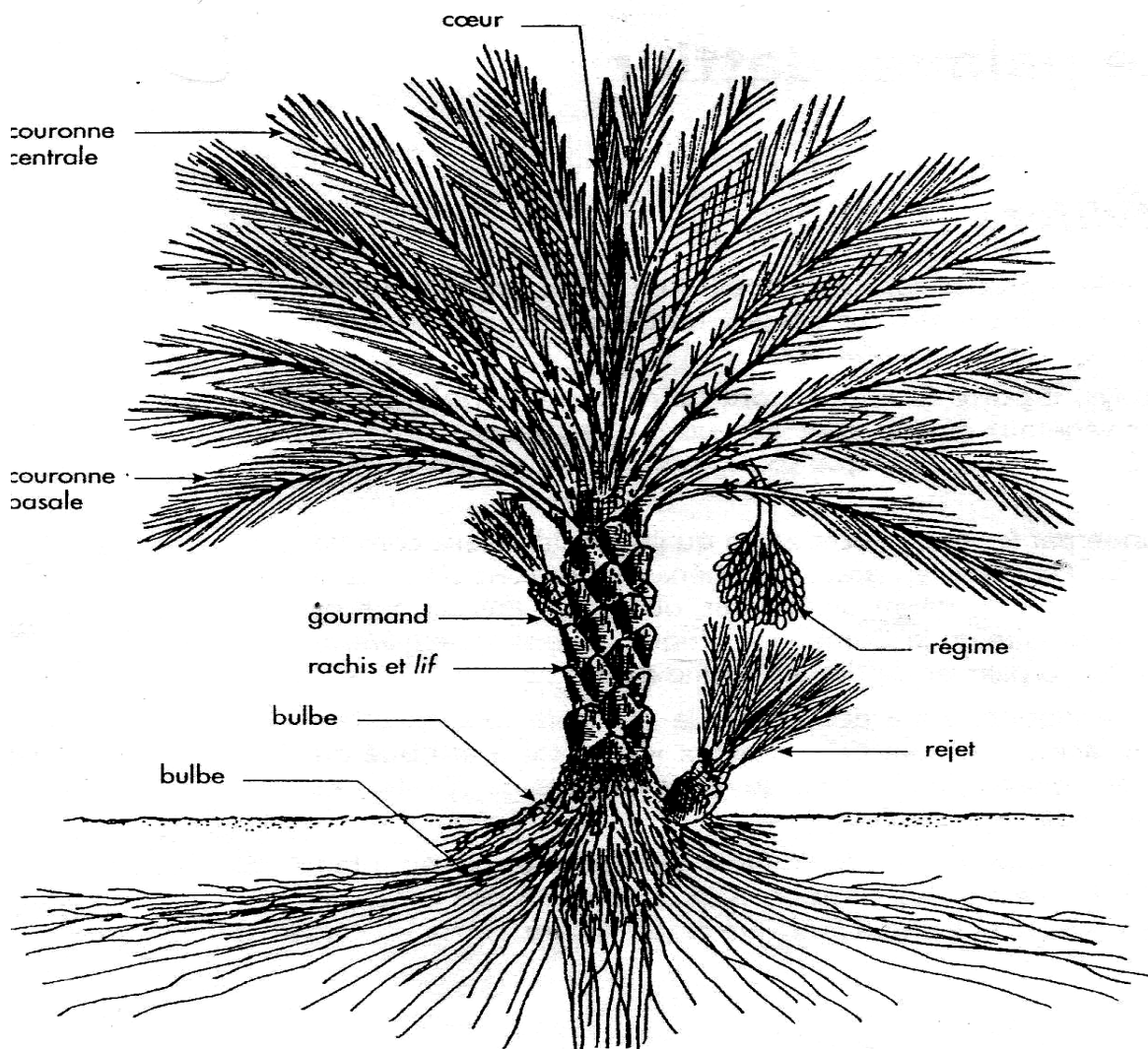


Figure (4): Le palmier dattier (Peyron, 1994)

2-Répartition géographique

Elle est essentiellement localisée dans les zones de la partie sud-est et centre sud du pays qui offrent des conditions écologiques favorables (Adimi, 2001).

La répartition géographique du palmier dattier dans le monde analysée par continent et zones géographiques, montre la prédominance du palmier dattier en Asie (55%), en Afrique le palmier dattier se localise principalement en Afrique du nord, cependant dans la zone méditerranéenne le nombre de palmier totalise 26% du nombre mondial estimé à 100 millions de pieds, la production de dates de 1,3 à 1,8 millions de tonnes, le rendement moyen par pied est d'environ 33 Kg, ces rendements sont de 73 Kg en EGYPTE ,100Kg au USA environ, contre 50 Kg en TUNISIE et 35 Kg\pied en Algérie (Koddouri, 2000).

Les zones les plus favorables à sa culture sont comprises entre 24 et 34 latitudes Nord (Maroc, Algérie, Egypte, Irak,...) (Babahani, 1998).

3-En Algérie

Actuellement la palmeraie Algérienne est constituée de plus de 16 millions des palmiers commencent bien avant la zone saharienne, puisqu'on les retrouve au niveau de la zone steppique, dans une base de transition encadrée au Nord par l'isohyètes 200mm et 100mm au Sud. Ces palmeraies, peuplées de peu intéressantes (non commercialisables et à conservation difficile) sont aujourd'hui cultivars menacées de disparition, les principales régions productrices, en Algérie: Bechar, Béni ounif vallée de Saoura, Touat, Guerara, Ouargla et Mazab (Adimi, 2001).

4-Taxonomie

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* L. par Linné (1734) Phoenix dérivé de phoinix nom du dattier chez les grecs de l'antiquité qui le considérait comme l'arbre des phoéniciens dactifera vient du latin dactylus dérivant du grec daktilus signifiant doigt en raison de la forme du fruit (Drira et al., 2000).

Le palmier est une monocotylédone arborescente (Peyron, 2000), de la famille des palmiers sous famille ou tribu des coryphènes dans la classification de genre phoenix comporte douze espèces (Adimi, 2001).

5-Morphologie

5-1-Système racinaire

Le système racinaire du dattier est fascicule, les racines se ramifient peu et n'ont relativement que peu de radicelles, ce système racinaire est volumineux et émerge en partie au-dessus du niveau du sol, les racines se développent entre 12 et 20 m de profondeur (Babahani, 1998).

Selon Babahani (1998), le système racinaire présente quatre zones d'enracinement en fonction de la profondeur :

- Racines respiratoires (0 à 30 cm)
- Racines de nutrition (30 à 120 cm)
- Racines d'absorption
- Racines d'absorption de profondeur

5-2-Le tronc et les rejets

Le tronc qu'on appelle plus justement stipe est cylindrique c'est-à-dire d'un même diamètre de bas en haut sauf à la base où l'on trouve les racines respiration, mais le stipe ne sera d'un diamètre vraiment constant que si la croissance de l'arbre a été régulière depuis son plus âge (Peyron, 1994).

La tige est couverte des bases des feuilles mortes portant le nom de stipe, ce stipe porte des palmes et à l'aisselle de chaque palme se trouve un bourgeon axillaire qui en développant peut donner naissance soit à une inflorescence dans la région coronaire ou à un rejet dans la région basale (Açourene, 2000).

À la base on trouve les racines respiratoires qui poussent en faisant éclater les Kornafs, on y trouve également les rejets, dans la partie médiane on trouve les Kornafs sont les bases pétiolaires du palmier qui restent collées au stipe après la palme, ils se dessèchent à leur extrémité et assurent une protection du tronc (Peyron, 1994).

Dans la partie terminale du tronc on trouve les palmes actives c'est-à-dire les palmes vertes qui sont insérées en hélices très rapprochées (Drira et al., 2000).

La tige est couverte des bases des feuilles mortes portant le nom de stipe, ce stipe porte des palmes et à l'aisselle de chaque palme se trouve un bourgeon axillaire qui en développant peut donner naissance soit à une inflorescence dans la région coronaire ou à un rejet dans la région basale (Açourene, 2000).

À la base on trouve les racines respiratoires qui poussent en faisant éclater les Kornafs, on y trouve également les rejets, dans la partie médiane on trouve les Kornafs sont les bases

pétiolaires du palmier qui restent collées au stipe après la palme, ils se dessèchent à leur extrémités assurent une protection du tronc (Peyron, 1994).

Dans la partie terminale du tronc on trouve les palmes activité c'est-à-dire les palmes vertes qui sont insérées en hélices très rapprochées (Açourene, 2000).

5-3-Les Palmes

Unepalmes ou Djérid est une feuille composée, la base pétiolaiire ou Kornaf engaine partiellement le tronc et est en partie recouverte par le fibrillum ou lif (Peyron, 1994).

5-4-Les inflorescences

Le palmier dattier est une plante dioïque c'est-à-dire que les organes males et les organes femelles sont sur individus différents palmiers males ou palmiers femelles, chaque individu ne porte que des inflorescences d'un même sexe, les inflorescences du dattier naissent du développement de bourgeons axillaires situés à l'aisselle des palmes dans la région coronaire du tronc, l'inflorescence est caractéristique: c'est une grappe d'épis (Peyron, 1994).

5-4-Fruit

La datte est une baie contenant une seule graine: noyau est constituée d'un mésocarpe charnu et protégé par un fin péricarpe le noyau est entouré d'un endocarpe la couleur est variable selon les espèces (Drira et *al.*, 2000).

- Jaune plus ou moins
- Jaune ombré translucide
- Brun plus ou moins prononcé
- Rouge ou noir

6-La culture

Les noyaux de palmier semés deviennent des palmiers Mais jamais les palmiers auxquels on s'attend, pour reproduire un palmier tel Deglet-Nour à titre d'exemple, il faut couper les rejets de leur mère et les replanter ailleurs. Les palmiers sont plantés selon deux conceptions: Soit en ligne, dans les nouvelles oasis, en gardant 8 mètres de distance entre chaque palmier, soit selon la méthode ancestrale, dans les anciennes oasis, en disposition serré. La première à l'avantage de permettre la production des dattes grand calibre mais malheureusement exige beaucoup d'eau car la terre reste à nu entre les palmiers ce qui favorise une évaporation

rapide. La méthode ancestrale consiste à planter les palmiers serrés les uns contre les autres et en plaçant des arbres fruitiers à grand feuillage, tels: figuier, pêches, abricotiers, grenadiers entre celles-ci, permet un ombrage suffisant pour permettre à la terre de garder son humidité pendant plusieurs jours même en plein été (Munier, 1973).

7-La multiplication

La propagation du palmier dattier se fait généralement par rejet, puisque l'espèce ne se produit pas fidèlement par noyau, le recours à la culture *in vitro* est plus récent, toutefois, les techniques mises au point offrent de grand perspective, surtout dans le domaine de la protection et de la lutte contre la fusariose (Boughdiri, 1985).

8-La pollinisation

Le palmier était une espèce dioïque, la présence de palmier mâle à proximité des pieds femelles sont nécessaire, la pollinisation peut se faire naturellement par le vent, mais on préfère pratique une pollinisation artificielle, plus sûre, la technique la plus répandue consiste à couper l'inflorescence mâle à maturité, lorsque la spathe se fond, à la dégager de celle-ci et à la mettre à sécher à l'ombre. On prélève 3 ou 4 épillets qu'on lie au milieu de chaque inflorescence femelle débarrassée de sa spathe, deux ou trois jours avant son épanouissement nature (Peyron, 1998).

9-La germination

Chez le *Phoenix dactylifera* L, l'embryon est situé dans la partie moyenne de la graine, constituée par un albumen corné entouré d'un tégument et présentant un raphé fortement saillant dans l'albumen.

Lorsque cette graine commence à germer, on voit l'extrémité radiculaire de l'embryon apparaitre au dehors et continuer à s'allonger fortement en s'enfonçant dans le sol et en augmentant de diamètre, pendant que le cône qui en forme l'extrémité s'allonge légèrement. En même temps, l'autre extrémité de l'embryon, restée dans la graine, devient globuleuse et commence à dissoudre et sucer l'albumen qui s'y trouve contenu à ce moment cesse l'allongement externe de l'ensemble de l'embryon. Il y a la une première phase de la germination qui constitue la fin de la maturation de l'embryon et qu'on désignée sous le nom de phase de préparation. La première transformation qui se produit chez l'embryon entrant dans la première phase de sa germination, est un allongement considérable des cellules qui

constituent la partie moyenne du corps embryonnaire, celle qui est située au-dessus de la gemmule et qui, plus tard Le méristème externe au cylindre central se différencie en une région interne donnant l'écorce et une région externe donnant la coiffe. Autour de tout ceci un certain nombre d'assises de cellules ne prennent pas à part à la formation de la radicule. Elles augmentent tout d'abord de volume, puis sont étirées et exfoliées sous l'action de la pression interne. L'exfoliation de cette graine radriculaire s'achève complètement lorsque, au début de la seconde phase de la germination, la radicule à s'allonger grâce au fonctionnement de son méristème terminal. La partie de l'embryon restée dans la graine est le limbre du cotylédon, ainsi que nous l'avons dit plus haut, ce limbre cotylédonaire remplit ici les fonctions de suçoir. Il digère l'albumen par des moyens que nous étudierons plus loin et (Drira et *al.*, 2000).

Chapitre III: L'application de la technique du RAPD sur le palmier dattier

1-L'identification du sexe

On a utilisé des marqueurs moléculaires RAPD pour contribution à l'étude de l'identification des pieds mâles et femelles chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L), la complexité du palmier dattier caractérisée par sa dioïque sa haute hétérozygotie et sa croissance lente rend auparavant impossible la détermination du sexe de la descendance d'un croisement au jeune âge, toutefois les techniques des marqueurs moléculaires fournissent des outils pour l'étude de ce mécanisme afin d'assister les programmes d'amélioration (Zaher et al., 2006).

Selon Zaher et al (2006) la technique RAPD peut être adoptée comme un outil pour l'identification du sexe au jeune âge pour une économie de moyens et une réduction des superficies expérimentales, les marqueurs RAPD ont été utilisés pour l'identification du sexe chez 40 descendants de différents croisements contrôlés (20 mâles et 20 femelles), après extraction de l'ADN à partir de jeunes folioles en utilisant 27 amorces, a permis de sélectionner 25% des amorces pour leur capacité de détection du polymorphisme entre les deux sexes par la suite ces amorces ont été testées chez les individus mâles et femelles séparément.

2- L'identification des cultivars

Selon (El-Rayes, 2006; Rawashdeh et al., 2006), ils ont utilisé la technique RAPD pour l'identification des cultivars. La convenance des empreintes génétiques de l'ADN polymorphe amplifiée aléatoirement avec le RAPD a été examinée comme repère génétique dans le palmier dattier.

Ils ont utilisé de amorces pour sélectionner les amorce polymorphe pour faire la différence entre les cultivars par exemple El Rayes, 2009, a utilisé 40 amorces pour analyser trois cultivars de palmier dattier (Sukkary rouge, Sukkary jaune, et Naptet Sukkary) ont été seulement 16 ont été choisis comme polymorphe, donnant 115 bandes. Les profils de RAPD étaient utilisés pour la différenciation des génotypes avec succès. Les trois cultivars de palmier dattier ont montré la variation au niveau d'ADN. Par conséquent, le polymorphisme détecté suggère que le RAPD l'un des marqueurs qui peuvent être employés avec succès pour l'identification des variétés et pour étudier la diversité génétique des cultivars.

Pour Rawashdeh et *al* (2006) aussi le marqueur RAPD a été employé pour caractériser cinq variétés de palmier dattier, Tabarzal, Zagloul, Mekfazy, Barhee et Nabtsaif en utilisant 30 amorces seulement 7 étaient fortement polymorphe et ont été employés pour différencier les cinq variétés de palmier dattier. La technique de RAPD pourrait être employée pour étudier efficacement la diversité génétique dans le palmier dattier et pour l'utiliser dans l'identification des variétés. Elle peut également aider à étudier la diversité génétique parmi et dans les populations de palmier dattier. L'étude de la variabilité inter- et intra-populations des cultivars déterminée sur la base des marqueurs morphologiques (fruit, palmes, inflorescences) et Moléculaires (RAPD), est étudié pour évaluer les similarités entrées populations et les cultivars.

3-La stabilité génétique

La technique de RAPD a été employée pour comparer le tissu cultivé en culture *in vitro* de palmier dattier avec leur origine 'la plante mère'. Huit amorces aléatoires ont été avec succès utilisées pour amplifier l'ADN et ont donné le polymorphisme suffisant pour chaque cultivar. La technique de RAPD (random amplified polymorphisme DAN) peut être appliqué avec succès pour déterminer la stabilité génétique (AI-Qurainy et *al.*, 2002).

4-La résistance au maladie de Bayoud

Beaucoup de plantations du Nord-Africain sont détruite par Le fusariose vasculaire (la maladie de bayoud), les plantations Algériennes n'apparaissent pas épargné, elles sont sans interruption menacées par cette maladie due à sa propagation rapide dans l'Est. Ainsi beaucoup de stratégies ont été développés en visant la caractérisation moléculaire du variétés de palmier dattier et l'élaboration d'un procédé préventif pour leur protection à l'aide de RAPD (Baaziz, 2003).

Trifi et *al.*, 1996; Baaziz, 2003; Boulouha, 2003; ont utilisé le RAPD pour étudier la résistance au maladie du Bayoud. Deux principaux objectifs sont actuellement visés dans tous les projets d'amélioration génétique du palmier dattier, une résistance à la maladie du Bayoud et une qualité fruitière acceptable (Baaziz, 2003). L'organisation des cultivars déterminée à l'aide des marqueurs RAPD n'a pas montré de corrélations avec la résistance au Bayoud et la qualité fruitière (Baaziz, 1995).

Dans un premier temps, ils ont utilisé un grand nombre d'amorces universelles à amplifier les segments de chaque ADN. Certains d'entre eux sont maintenus comme potentiel marqueurs

pour identifier des variétés et des écotypes de palmier dattier. On sait maintenant que cette technique pourrait être actuellement employée en tant que méthode efficace d'examiner des variétés bayoud-résistantes dues au grand corrélation entre ces molécules et le comportement de palmier dattier dans le fusarioses (Trifi et *al.*, 1996).

La caractérisation génotypique de différentes variétés de palmier dattier a abouti à l'élaboration de 39 fiches descriptives de géotypes différents. Par ailleurs, la caractérisation moléculaire par les amorces RAPD appliquées pour l'identification de marqueurs liés à la résistance au Bayoud a permis la sélection de 07 marqueurs candidats (Boulouha, 2003).

CONCLUSION

Cette étude porte sur l'étude des différents types de marqueurs moléculaires (RAPD, RFLP, AFLP,.....), les marqueurs moléculaires peuvent avoir de nombreuses applications dans les différentes phases des programmes de sélection optimisation de la conservation des ressources génétiques, choix des géniteurs et l'identification d'allèles intéressants aide à la construction de génotypes cumulant de tels allèles. Et aussi sur l'identification des caractères généraux du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. qui est une plante monocotylédone arborescente et dioïque.

Actuellement la palmeraie Algérienne est constituée de plus de 16 millions de palmiers ces palmeraies, peuplées de peu intéressant (non commercialisables et à conservation difficile) sont aujourd'hui des cultivars menacées de disparition. Pour connaître mieux les palmeraies Algériennes, il est de notre devoir d'au moins inventorier les ressources génétiques du palmier dattier afin d'organiser leur sauvegarde et transmettre, ainsi, une richesse génétique plus importante. En Algérie, chaque palmeraie possède une composition variétale qui lui est propre, résultant d'une sélection locale au sein d'un oasis déterminé. L'application de la technique RAPD sur le palmier dattier sera très utile pour identifier les cultivars Algériennes et pour d'autres raisons importantes comme l'amélioration génétique, la résistance aux maladies (Bayoud), la stabilité génétique et l'identification de sexe.

