

Etude comparative des palmiers dattiers mâles et femelles de la région de Marrakech réalisée sur la base des phénotypes isoenzymatiques des estérases, peroxydases et endopéptidases

Majourhat K.¹, Bendiab K.^{1,2} et Baaziz M.¹

¹ Laboratoire de Biochimie et Amélioration des Plantes, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences-Semlalia, B.P. S 15, Marrakech, Maroc

² Laboratoire de Biochimie, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences et Techniques de Gueliz, B.P. 618, Marrakech, Maroc

Résumé

Afin de faire une comparaison biochimique des pieds mâles et femelles du palmier dattier (Phoenix dactylifera L.) de la palmeraie de Marrakech, l'étude de la variabilité enzymatique des estérases (EST), des peroxydases (POX) et des endopéptidases (ENP) a été réalisée en utilisant des folioles de 280 palmiers adultes, choisis au hasard, dans trois grands secteurs de la palmeraie. Cet échantillonnage a permis de montrer que le sexe mâle représente 54 % des palmiers dattiers étudiés. Au total, 22 phénotypes isoenzymatiques des EST, POX et ENP ont été recensés pour les 3 systèmes enzymatiques polymorphes. L'analyse des fréquences des phénotypes a permis de montrer une abondance des phénotypes A des EST, B des POX et C des ENP chez les palmiers mâles. L'appartenance des pieds mâles et femelles à une même origine génétique probable, la variété 'Bou-Skri' et l'approfondissement des études sur les isoenzymes comme marqueurs précoces du sexe chez le palmier dattier, sont discutés.

Mots clés : Palmier dattier, isoenzymes, palmier mâle, palmier femelle, palmeraie de Marrakech

Abstract : Comparative study of male and female date palms in Marrakech as achieved on the basis of isoenzyme phenotypes of esterases, peroxidases and endopeptidases

In order to carry out a biochemical comparison between male and female date palm trees (Phoenix dactylifera L.) in Marrakech, leaf isoenzyme variability of esterases (EST), peroxidases (POX) and endopeptidases (ENP) was achieved using 280 adult date palms, randomly harvested in three sectors of Marrakech palm grove. A part of 54 % of all trees exhibited male sex. A total of 22 isoenzyme phenotypes were scored for the three polymorphic enzyme sys-

tems. The data analysis showed high frequencies of the respective phenotypes A, B and C for EST, POX and ENP, in male palm trees. Data related to a possible same genetic origin ('Bou-Skri' cultivar) for both male and female date palms in Marrakech and research of valuable early markers for sex determination are discussed in this study.

Key words : Date palm, isoenzymes, male palm trees, female palm trees, Marrakech palm grove

ملخص : مقارنة بين نخل التمر الذكر و الأنثى بناحية مراكش من خلال دراسة الأنماط الأنزيمية لإستيراز و البيروكسيداز و البيروكسيداز

مجروحات ك.1، بندياب ك.2، و بعزيم م.1
1 مختبر البيوكيمياء و تحسين النباتات، جامعة القاضي عياض، كلية العلوم-سملالية، ص.ب. S15، مراكش، المغرب
2 مختبر البيوكيمياء، جامعة القاضي عياض، كلية العلوم-كليز، ص.ب. 618، مراكش، المغرب

حتى يمكن القيام بمقارنة بيوكيميائية لأشجار نخل التمر (*Phoenix dactylifera* L.) ذوي الجنس الذكري والأنثوي بواحة مراكش، تمت دراسة التنوع الأنزيمي للإستيراز (Esterases, EST) و البيروكسيداز (Peroxidases, POX) و البيبتيداز (Endopeptidases, ENP)، انطلاقا من أوراق 280 نخلة اختيرت تلقائيا داخل ثلاثة مناطق بالواحة. لقد مكن هذا من التعرف على 54% كنسبة للأشجار ذوي الجنس الذكري. لقد تم حصر التنوع في 22 نمطا أنزيميا من نوع EST و POX و ENP و تعتبر الأنماط A و B و C للأنزيمات الثلاثة بالتوالي أشكالا ذات وفرة عالية لدي الجنس الذكري.
لقد عالجت الدراسة إمكانية انتماء كل الأشجار، مهما كان جنسها، إلى أصل مشترك يكمن في صنف البوسكري، كما أظهر البحث جدوى تطوير المؤشرات الأنزيمية كوسيلة للكشف المبكر عن جنس أشجار نخل التمر.

الكلمات المفتاحية : نخل التمر، نخل ذكر، نخل أنثى، أشباه أنزيمية، واحة مراكش

Introduction

La palmeraie de Marrakech, située entre le Haut Atlas et la petite chaîne de Jbilet, est un exemple de palmeraies marginales, jouant des rôles essentiellement écologique et touristique. C'était l'arrivée des Almoravides dans cette région vers le onzième siècle qui aurait été à l'origine de cette palmeraie. Ainsi, les caravaniers venant du sud et marquant des moments de repos, auraient jeté des graines qui auraient germées pour donner la palmeraie entière.

La participation de la palmeraie de Marrakech (800 ha de superficie et 150000 palmiers) à la production dattière nationale reste négligeable devant celles des palmeraies marocaines situées plus au sud. Ceci est dû à la composition de ses ressources génétiques, constituées en grande partie de palmiers mâles et de 'khalts' (palmiers issus de semis) et où la maturation des fruits

produits par les palmiers femelles est incomplète. Peu de travaux ont été consacrés aux variétés de palmier dattier de la région de Marrakech. En s'aidant d'une clef d'identification variétale établie sur la base de données isoenzymatiques de 28 cultivars bien connus à la Station expérimentale de Nebch à Zagora, Bendiab et al. (1998) ont montré que 20 % seulement des palmiers de Marrakech correspondent à 15 variétés du sud, faiblement représentées. Néanmoins, cet assortiment variétal ne peut pas être confirmé selon la méthode traditionnelle. En effet, les fruits, indispensables pour l'identification morphologique des cultivars, n'arrivent pas à terminer leur maturité. Auparavant, El Houmaizi et al. (1993) ont étudié 6 cultivars de palmier dattier rencontrés à Marrakech. Il s'agit des variétés 'Bou-Skri', 'Tadment', 'Bou-Sthammi noire', 'Iklane', 'Jihel' et 'Bou-Feggous'. Les pieds des 3 derniers cultivars, morphologiquement identifiés, présentaient le phénotype isoenzymatique de 'Bou-Skri' (3 bandes d'estérases au niveau de la zone d'activité Est-1) défini par Baaziz et Saaidi (1988) en utilisant les folioles comme matériel végétal. En appliquant la même méthode avec du pollen comme matériel de départ, des essais d'identification de clones mâles de palmier dattier ont été réalisés par Fakir et al. (1992). Ainsi, l'exploitation des systèmes enzymatiques des estérases et de la glutamate oxaloacétate transaminase a permis de caractériser 11 génotypes mâles provenant du Haut Tafilalet.

En utilisant le même matériel végétal (folioles), prélevé aussi bien sur des palmiers mâles que des palmiers femelles, nous contribuons, dans cette étude, à la comparaison de ces deux ressources génétiques sur la base des phénotypes électrophorétiques de 3 systèmes enzymatiques polymorphes chez le palmier dattier. Il s'agit des estérases, des peroxydases et des endopéptidases. Ainsi, l'appartenance éventuelle à une ou plusieurs sources génétiques (variétés) sera discutée. Les systèmes enzymatiques plus discriminants des ressources seront identifiés pour l'approfondissement des travaux visant l'identification précoce des sexes mâle et femelle chez *Phoenix dactylifera* L.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

L'échantillonnage des folioles est réalisé sur les palmiers adultes mâles et femelles appartenant à trois grands secteurs de la palmeraie de Marrakech, notés P1 (secteur central), P2 (secteur Nord-Ouest) et P3 (secteur Nord-Est). Dans chaque secteur, une centaine de palmiers dattiers adultes sont échantillonnés. Les folioles prélevées sont identifiées suivant le secteur et le sexe du palmier dont elles sont issues. Elles sont séparées en 2 lots selon le sexe mâle ou femelle. Ainsi, aux secteurs P1, P2 et P3 correspondent les couples de lots (mâle, femelle) respectifs (M1, F1), (M2, F2) et (M3, F3). Le matériel végétal est conservé, ensuite, à -40 °C jusqu'à son utilisation ultérieure.

Extraction des enzymes et électrophorèse

Des extraits enzymatiques sont préparés à partir des folioles de palmier dattier à l'aide d'un tampon TAME (pH 7,0) (Bendiab et al., 1993). Les estérases (EST), endopéptidases (ENP) et peroxydases (POX) sont séparées et révélées sur des gels de 11 % en polyacrylamide, suivant les méthodes décrites dans Bendiab (1992) et Bendiab et al. (1993).

Résultats

Le dénombrement des palmiers mâles et femelles de la palmeraie de Marrakech a permis de constater que 54 % des palmiers sont de sexe mâle (Tableau 1). Ce pourcentage est moins variable d'un secteur à l'autre. La variation reste limitée à 2-3 %.

Tableau 1. Effectifs des palmiers dattiers de sexe mâle (M) et femelle (F) dans 3 secteurs de la palmeraie de Marrakech (P1, P2 et P3).

Secteur	Lot	N ^a	P ^b (%)
P1	M1	49	51
	F1	47	49
P2	M2	47	56
	F2	37	44
P3	M3	54	54
	F3	46	46
Palmeraie (P1+P2+P3)	M	150	54
	F	130	46

^a N indique l'effectif de palmiers dattiers échantillonnés.

^b P indique les pourcentages, par secteur, des palmiers mâles et femelles.

L'électrophorèse d'extraits enzymatiques préparés à partir des folioles, suivie d'une détection de l'activité des EST, POX et ENP sur gel, permet l'obtention de zymogrammes montrant deux et trois zones d'activité pour les systèmes des EST et POX, respectivement (Fig.1). Une seule zone d'activité est révélée pour le système des ENP. Ainsi, 22 phénotypes électrophorétiques sont mis en évidence (Fig.2). La zone EST-1 contribue, avec d'autres isoformes anodiques de la zone EST-2, à la formation de 12 phénotypes des EST, notés A-L. Le système des POX ne montre que 4 phénotypes différents (A-D). La révélation des ENP est à l'origine de 6 phénotypes (A-F). Les fréquences des phénotypes électrophorétiques des différentes enzymes sont résumées dans le tableau 2. Ainsi, les lots de palmiers dattiers mâles sont caractérisés, essentiellement, par des fréquences élevées pour les phénotypes A des EST, B des POX et C des ENP. Par contre, les phénotypes D des EST et des POX et le phénotype B des ENP sont plus abondants chez les lots de palmiers femelles. La répartition des principaux phénotypes isoenzymatiques (fréquence supérieure à 0,05 pour les 2 sexes) sur les 2 ressources génétiques dans la palmeraie totale (P1+P2+P3) confirme la présence simultanée des phéno-

types dans les deux cas, avec l'abondance des types A des EST, B des POX et C des ENP chez les palmiers mâles (Fig.3). Le phénotype D des POX, aux isoformes plus anodiques, est plus fréquent chez les palmiers dattiers de sexe femelle.

Tableau 2. Fréquences des phénotypes isoenzymatiques des estérases (EST), peroxydases (POX) et endopéptidases (ENP), déterminées pour 3 lots de palmiers dattiers mâles (M1, M2 et M3) et 3 autres lots de sexe femelles (F1, F2 et F3) correspondant à 3 secteurs de la palmeraie de Marrakech (P1, P2 et P3)

Enzyme	Phénotype ^b	lots de palmiers ^a							
		P1		P2		P3		P1+P2+P3	
		M1 (49)	F1 (47)	M2 (47)	F2 (37)	M3 (54)	F3 (46)	M (150)	F (130)
EST	A	0,25	0,04	0,23	0,19	0,18	0,07	0,22	0,10
	B	0,08	0,04	0,11	0,08	0,04	0,04	0,08	0,06
	C	0,29	0,32	0,26	0,20	0,26	0,20	0,27	0,24
	D	0,08	0,19	0,09	0,08	0,07	0,24	0,08	0,17
	E	0,04	-	0,09	0,16	0,04	0,11	0,06	0,09
	F	0,04	0,13	0,04	-	0,07	0,11	0,05	0,08
	G	0,06	-	0,02	0,03	0,02	-	0,03	0,01
	H	-	-	0,02	0,08	0,07	0,02	0,03	0,03
	I	0,10	0,15	0,09	0,05	0,17	0,17	0,12	0,12
	J	-	-	0,06	0,11	0,02	0,02	0,03	0,04
	K	0,02	0,06	-	0,03	0,04	0,02	0,02	0,04
	L	0,04	0,06	-	-	-	-	0,01	0,02
POX	A	0,59	0,62	0,85	0,78	0,65	0,65	0,70	0,68
	B	0,20	0,17	0,09	0,03	0,24	0,20	0,18	0,13
	C	0,04	0,02	-	-	0,07	0,13	0,04	0,05
	D	0,16	0,19	0,06	0,19	0,04	0,02	0,08	0,14
ENP	A	0,53	0,53	0,45	0,46	0,43	0,50	0,47	0,50
	B	0,08	0,26	0,23	0,27	0,20	0,26	0,17	0,27
	C	0,29	0,13	0,26	0,19	0,28	0,19	0,28	0,17
	D	0,02	0,06	-	0,03	0,04	0,04	0,02	0,04
	E	0,08	0,02	0,06	0,05	0,06	-	0,06	0,02

^a les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de palmiers dattiers étudiés

^b les phénotypes isoenzymatiques sont indiqués dans la figure 2

Figure 1. Zymogrammes des estérases (EST), peroxydases (POX) et endopéptidases (ENP) obtenus après électrophorèse d'extraits foliaires de palmiers dattiers mâles et femelles de la palmeraie de Marrakech. Les zones d'activité EST-1 et EST-2 des estérases sont indiquées à droite du zymogramme.

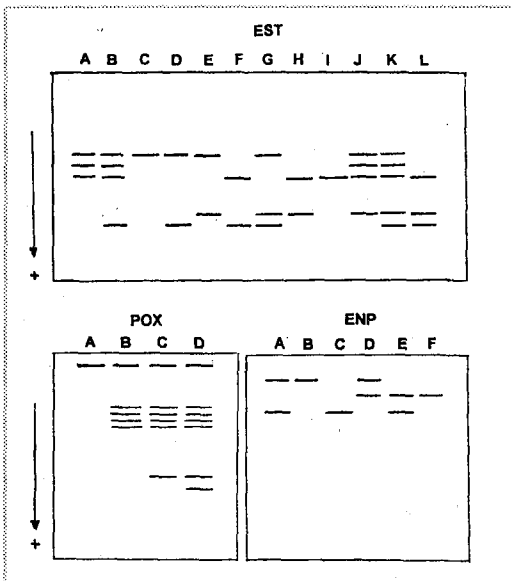
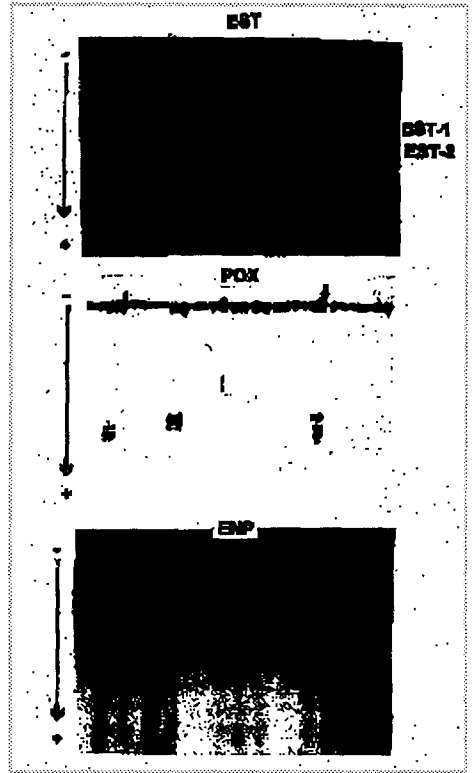


Figure 2. Représentation des phénotypes isoenzymatiques des estérases (EST), peroxydases (POX) et endopéptidases (ENP) révélés au niveau des folioles de palmiers dattiers mâles et femelles de la palmeraie

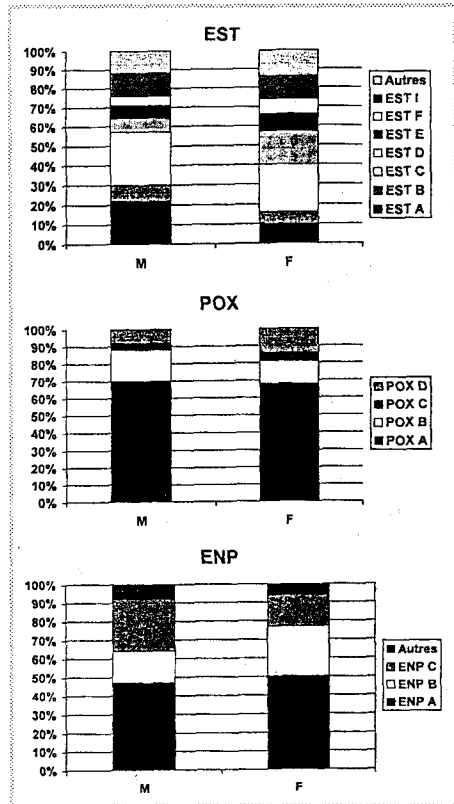


Figure 3. Répartition (%) des phénotypes électrophorétiques des estérases (EST), peroxydases (POX) et endopéptidases (ENP) selon les sexes mâle (M) et femelle (F) des palmiers dattiers de la palmeraie de Marrakech.

Discussion et conclusion

Le pourcentage élevé de palmiers dattiers mâles dans la palmeraie de Marrakech (54 %) confirme l'hypothèse qu'elle résulte de semis naturels où seulement la moitié de l'effectif des plantes est de sexe femelle, pouvant donner des fruits à maturation partielle. Le pourcentage élevé de palmiers mâles est en faveur du maintien de la diversité génétique de la palmeraie de Marrakech. Cependant, il n'est pas indispensable pour assurer la pollinisation de l'ensemble des palmiers femelles. En effet, il suffit de 2 % de palmiers mâles pour assurer la pollinisation à l'intérieur d'une palmeraie (Saaidi, communication personnelle).

Sans considération des sexes mâle et femelle des palmiers dattiers de la palmeraie de Marrakech, le phénotype électrophorétique des ENP le plus fréquent est de type A. Celui ci caractérise plusieurs variétés de palmier, comme 'Bou-Skri', 'Bou-Feggous ou Moussa', 'Bou-Sthammi blanche', 'Bou-Sthammi noire' et 'Jihel' (Baaziz et Saaidi, 1988 ; Bendiab et al., 1998). Le fait que le phénotype isoenzymatique A des EST est l'un des 2 phénotypes les plus

fréquents (A,C) à Marrakech est en faveur de la présence du cultivar 'Bou-Skri' qui montre le caractère d'hybride pour plusieurs loci des ENP, EST et GOT (glutamate oxaloacétate transaminase). Le même résultat a été trouvé auparavant par Bendiab (1992) où la palmeraie de Marrakech forme un groupe d'affinité avec les lots de plants de palmier dattier issus de graines provenant de croisements avec le cultivar 'Bou-Skri'. Il n'est pas exclu que la variété 'Bou-Skri' qui produit des dattes sèches s'apprêtant facilement à la conservation et au transport, constituerait une source de nourriture importante des caravaniers venant du sud et qui auraient disséminé des graines de la variété 'Bou-Skri' à Marrakech.

Dans cette étude, les phénotypes isoenzymatiques rencontrés chez les palmiers femelles, peuvent être également trouvés chez les pieds mâles, justifiant une origine génétique commune. Néanmoins, l'abondance de certains phénotypes peut être liée à l'expression (aspect quantitatif) des gènes les gouvernant. Ce serait le cas des phénotypes C et D des peroxydases, fréquents chez les palmiers femelles et qui se distinguent des phénotypes A et B par la présence d'isoformes très anodiques, révélées chez les individus de haute activité enzymatique (résultats non publiés). Les marqueurs biochimiques préliminaires ayant montré une différence d'expression selon le sexe du palmier dattier, méritent d'être approfondis sur leurs aspects quantitatif et qualitatif. En effet, l'identification précoce des sexes mâle et femelle chez le palmier dattier revêt un intérêt primordial. Les palmiers mâles fournissant du pollen sont très importants dans les programmes de croisements dirigés visant l'amélioration de la plante pour la productivité (Al-Ghamdi et al., 1988) et la résistance aux maladies (Saaidi, 1990). Notons, cependant, que des inflorescences bisexuées peuvent, parfois, apparaître au cours de la période de maturation des dattes. La rareté des études dans ce domaine est due, essentiellement, au retard dans l'apparition des inflorescences mâles et femelles, nécessaires pour confirmer le sexe de la plante. Une tentative a été réalisée dernièrement par Siljak-Yakovlev et al. (1996) qui, en considérant un déterminisme chromosomique du sexe (type XY), ont développé une méthode cytologique, difficile d'application et basée sur la coloration des chromosomes avec la chromomycine A3 (se fixant sur les séquences de DNA riches en bases GC) et permettant de distinguer les paires de chromosomes femelles et mâles qui sont homomorphes et hétéromorphes, respectivement. Néanmoins, l'existence, même dans des cas rares, de palmiers dattiers bisexués peut impliquer des confusions dans la caractérisation biochimique du sexe, rendant le déterminisme sexuel de type XX-XY insuffisant pour expliquer la formation de fleurs de sexe opposé chez les espèces dioïques. Il en découle la nécessité de développer des marqueurs de types variés dans le cas du palmier dattier.

Remerciements

Ce travail est soutenu par une bourse de recherche IFS D/2465-1 de la Fondation Internationale pour la Science, Stockholm, Suède.

Références

- Al-Ghamdi, A.S., Al-Hassan, G.M. & Jahjah, M. 1988. Evaluation of eight seedling date palm (*Phoenix dactylifera* L.) males and their effects on fruit character of three female cultivars. Arab Gulf J. Scient. Res., Agric. Biol. Sci. B6, 175-187.
- Baaziz, M. & Saaidi, M. 1988. Preliminary identification of date palm cultivars by esterase isoenzymes and peroxidase activities. Can. J. Bot. 66, 89-93.
- Bendiab, K. 1992. Contribution à l'étude de la variabilité enzymatique et protéique chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Apport dans l'amélioration génétique de la plante. Diplôme d'Etudes Supérieures, Université Cadi Ayyad, Marrakech.
- Bendiab, K., Baaziz, M., Brakez, Z. & Sedra My H. 1993. Correlation of isoenzyme polymorphism and Bayoud-disease resistance in date palm cultivars and progeny. Euphytica 65, 23-32.
- Bendiab, K., Baaziz, M. & Majourhat, K. 1998. Preliminary date palm cultivar composition of Moroccan palm groves as revealed by leaf isoenzyme phenotypes. Biochem. Syst. Ecol. 26, 71-82.
- El Houmaizi, M., Saaidi, M. & Baaziz, M. 1993. Etude morphologique et isoenzymatique de six cultivars de palmier dattier cultivés à Marrakech et Zagora. Al Awamia 82, 151-164.
- Fakir, S., Carbonnier, J. & Birouk, A. 1992. Essai d'identification de clones mâles de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par les isoenzymes du pollen. Rev. Res. Amélior. Agr. Milieu Aride 4, 1-10.
- Saaidi, M. 1990. Amélioration génétique du palmier dattier. Critères de sélection, techniques et résultats. Options Méditerranéennes, Ser. A 11, 133-154.
- Siljak-Yakovlev, S., Benmalek, S., Cerbah, M., Coba de la Pena, T., Bounaga, N., Brown, S.C. & Sarr, A. 1996. Chromosomal sex determination and heterochromatin structure in date palm. Sex Plant Reprod. 9, 127-132.