



## Variabilité génétique et compréhension de la transmission de l'acidité de l'huile dans les fruits mûrs chez le palmier à huile (*E. guineensis*, Jacq.)

Domonhédó Hubert<sup>\*123</sup>, Nodichao Léifi<sup>1</sup>, Billotte Norbert<sup>4</sup>, Ahanhanzo Corneille<sup>3</sup>, Cros David<sup>4</sup>

\* Auteur correspondant : Tel : +229 97 25 16 53 E-mail : [hubertdomonhedo@yahoo.fr](mailto:hubertdomonhedo@yahoo.fr)

1 : Centre de Recherches Agricoles Plantes Pérennes (CRA-PP), Institut National des Recherches Agricoles du Bénin, BP 1 Pobè, Bénin

2 : Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin

3 : Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin

4 : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR AGAP (Unité Mixte de Recherches Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes méditerranéennes et tropicales), 34398 Montpellier, France

Original submitted in on 15<sup>th</sup> September 2017. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 30<sup>th</sup> November 2017

<https://dx.doi.org/10.4314/jab.v119i1.5>

### RESUME

**Objectif :** La présente étude vise à caractériser la variabilité de l'acidité de l'huile du mésocarpe des fruits mûrs du palmier à huile (*E. guineensis*, Jacq.) et approfondir le mode de transmission de ce caractère chez le genre *Elaeis*.

**Méthodologie et Résultats :** 1183 palmiers à huile ont été considérés dans plusieurs familles des deux espèces (*E. guineensis*, *E. oleifera*), d'hybrides interspécifiques et de rétrocroisements de premières générations. L'acidité (% d'acides gras libres) de l'huile a été déterminée par titrage à l'hydroxyde de potassium. L'analyse des résultats a révélé une forte variabilité (0-88% d'acidité) avec 38% des individus présentant une faible acidité, dont tous les *E. oleifera* (0-9% d'acidité). Une variation importante est observée au sein d'une même classe d'acidité des différents matériels caractérisés. Dans différentes origines génétiques étudiées dans les groupes A et B de l'*E. guineensis*, il a été identifié plusieurs familles homozygotes à faible acidité et des familles en disjonction pour l'acidité, avec une ségrégation de type 3 : 1 confirmée par le test de Chi<sup>2</sup>. Les individus hybrides (*E. guineensis* x *E. oleifera*) sont de la même classe d'acidité que le parent *E. guineensis*.

**Conclusions et application des résultats :** Le déterminisme génétique supposé de l'acidité de l'huile, basé sur un gène majeur avec la faible acidité récessive, serait valable au niveau de l'ensemble du genre *Elaeis*. Par ailleurs, d'autres gènes mineurs pourraient être impliqués. Les résultats obtenus permettent d'élargir la diversité génétique pour optimiser la production de semences commerciales à faible acidité. Ils ouvrent des pistes pour la recherche d'autres gènes probablement impliqués dans la variation de l'acidité.

**Mots clés :** acidité, variabilité génétique, hérédité, palmier à huile

## Genetic variability and understanding of inheritance of palm oil acidity in mature fruits of oil palm (*E. guineensis*, Jacq.)

### ABSTRACT

**Objective:** The present study aims to characterize the variability of palm oil acidity in the mesocarp of mature fruit of oil palm (*E. guineensis*, Jacq.) and deepen our understanding of the inheritance of that trait in the genus *Elaeis*

**Methodology and Results:** One thousand one hundred and three (1183) oil palms were considered in different backgrounds of both species (*E. guineensis*, *E. oleifera*), interspecific hybrids and a first generation of backcross. Palm oil acidity (% of free fatty acids) was determined by titration using KOH. The analysis of the results revealed a high variability (0-88% of acidity) with 38% of the individuals that presented low acidity and among them all the *E. oleifera* individuals (0-9% of acidity). An important variation was observed in a same class of acidity (high or low) for the different materials analyzed. In the different genetic origins of groups A and B of *E. guineensis*, several families homozygous for low acidity were identified just as other families in disjunction for acidity with confirmation of 3: 1 segregation type by Chi-square test. The acidity of hybrids (*E. guineensis* x *E. oleifera*) was the same with the *E. guineensis* parent.

**Conclusions and application of the results:** The supposed genetic determinism of palm oil acidity, based on a major gene with low acidity as recessive allele, would be valid for the whole genus *Elaeis*. Moreover, other minor genes could be implicated. The findings will extend the genetic diversity used to optimize commercial seed production with low acidity. These findings open the way to research other genes probably implicated in the variation of palm oil acidity.

**Keywords:** acidity, genetic variability, heredity, oil palm

### INTRODUCTION

Parmi les plantes oléagineuses, le palmier à huile (*Elaeis guineensis*, Jacq.) est celle qui fournit le plus gros rendement d'huile par hectare, avec en moyenne 4 tonnes/ha/an (Rival et Levang, 2014; Corley et Tinker, 2016). Dans les conditions agropédologiques favorables, ce rendement en huile peut atteindre 7 à 9 tonnes/ha/an (Durand-Gasselin *et al.* 2010, 2011). Ses principaux produits sont l'huile de palme issue du mésocarpe du fruit et l'huile de palmiste provenant de l'amande du fruit. La production d'huile de palme était estimée à environ 62 millions de tonnes en 2014/2015 (USDA 2017). Ceci représente plus du tiers de la production totale des corps gras végétaux. L'augmentation des rendements en huile a longtemps constitué l'un des principaux objectifs des travaux d'amélioration variétale chez le palmier à huile (Demol *et al.* 2002; Corley et Tinker 2016) et a contribué significativement aux performances actuelles. De nouveaux critères de sélection s'imposent de nos jours pour prendre en compte les nouveaux besoins d'amélioration

génétique pour produire de façon efficiente et plus compétitive l'huile de palme et faire face au développement de la filière. Ainsi, face à l'augmentation du coût de l'abondante main d'œuvre qui est indispensable à l'entretien et à la récolte manuelle des plantations, il est nécessaire de développer des variétés optimisées en termes de rendement en huile par unité de main d'œuvre. Il s'agira notamment de variétés compactes (conciliant une faible croissance en hauteur du stipe et un encombrement réduit), de variétés à faible abscission des fruits, etc. Aussi, la qualité alimentaire de l'huile de palme (richesse en vitamines, composition en acide gras, richesse en acides gras insaturés, faible teneur en acides gras libres, etc.) est aujourd'hui devenue un point important pour la filière. Une lipase endogène de la pulpe du fruit a été identifiée chez le palmier à huile (Abigor *et al.* 1985 ; Henderson et Osborne 1991 ; Sambanthamurthi *et al.* 1995 ; Ngando Ebongue *et al.* 2006). Elle se trouve compartimentée dans la cellule du mésocarpe et

rentre en contact avec l'huile quand il y a une rupture de la membrane cellulaire (Corley et Tinker 2016), lors de l'abscission ou d'une blessure du fruit mûr. Elle agit sur les liaisons «ester» des molécules de mono, di et triglycérides en milieu aqueux, libérant ainsi des molécules de glycérol et des acides gras (Abigor et al. 1985; Desassis 1957; Ngando Ebongue et al. 2006, 2008). Son implication, en tant que principal facteur, dans l'acidification de l'huile de palme est désormais bien établie (Morcillo et al. 2013; Ngando Ebongue et al. 2008). L'acidification de l'huile dépend du génotype et ne serait pas sous l'action de facteurs environnementaux (Ngando Ebongue 2009). Elle constitue un problème en termes de qualité alimentaire de l'huile. Au-delà de 5% d'acides gras libres (AGL) dans l'huile, cette dernière devient impropre à la consommation (Codex Alimentarius/FAO/WHO 2005; Codex Alimentarius 2015), sans raffinage approprié. L'acidification s'accompagne de plusieurs effets négatifs. Après dégradation des triglycérides, les doubles liaisons des acides gras insaturés subissent une peroxydation et se fragmentent en générant des aldéhydes et des cétones responsables du rancissement (Ngando Ebongue 2009). Ceci pose un problème de conservation de l'huile qui devient peu stable, alors qu'elle peut être stockée pendant des mois avant sa vente. Pour limiter l'acidification de l'huile de palme et pallier ses effets négatifs il est nécessaire de procéder à la récolte fréquente des régimes mûrs, tous les 7 à 10 jours (Morcillo et al. 2013; Ngando Ebongue 2009). En plus, la stérilisation de ces régimes doit suivre rapidement pour inactiver l'enzyme. Ces conditions, qui génèrent un surcoût, sont parfois difficiles à respecter, en particulier par les petits producteurs. Plusieurs équipes de recherche ont procédé à la caractérisation du degré d'activité lipase ou d'acidité dans certains fonds génétiques (Sambanthamurthi et al. 2000; Ngando Ebongue et al. 2008; Cadena et al. 2012; Wong et al. 2015; Likeng-Li-Ngue et al. 2016). Ces caractérisations ont permis de noter l'existence chez *E. guineensis* d'individus à forte acidité et d'autres à faible acidité. Par contre, chez *E. oleifera*, les caractérisations faites jusque-là ont montré que les

individus présentaient une faible acidité. Au vu de tout ceci, il est alors possible de mener une sélection pour une faible acidité. Chez *E. guineensis*, l'amélioration génétique repose sur deux groupes, présentant des caractéristiques complémentaires pour la production de régimes. Le groupe A, composé des populations Deli (asiatique) et Angola est caractérisé par un petit nombre de gros régimes de type variétal dura (aux fruits à coque épaisse). Le groupe B, composé des autres populations africaines (Côte d'Ivoire, Congo, etc.), est caractérisé par un grand nombre de petits régimes de type variétal tenera (à coque mince) ou pisifera (sans coque). Ces deux groupes sont améliorés l'un par rapport à l'autre en cycles successifs à travers un schéma de sélection récurrente réciproque. Le progrès génétique obtenu à l'issue de chaque cycle est diffusé à travers la production de semences tenera, hybrides inter groupes (dura A x pisifera B). Dans les familles issues du palmier DA115D du groupe A, il est montré que le caractère « acidité » est monogénique, et que la faible acidité est récessive (Domonhédó 2010; Likeng-Li-Ngue et al. 2016; Morcillo et al. 2013). Par ailleurs, Nurniwalis et al. (2007, 2008) et Morcillo et al. (2013) ont indépendamment identifié un gène dénommé respectivement *FLL1* (Fruit Lipase-Like 1) et *EgLIP1* et qui contrôle l'hydrolyse des triglycérides dans le mésocarpe. Nurniwalis et al. (2015) ont révélé que *FLL1* et *EgLIP1* sont en réalité le même gène. L'activité de la protéine exprimée par ce gène est élevée chez des génotypes de *E. guineensis* à forte acidité, en lien avec la quantité de transcrite codant pour le gène *Eglip1*, pendant qu'elle est nulle chez des génotypes à faible acidité. L'activité de cette lipase est positivement corrélée à l'acidité de l'huile du mésocarpe des fruits (Ngando Ebongue et al. 2008). Un marqueur mEgCIR\_LIP03 du gène *EgLIP1* qui co-segrège avec l'acidité de l'huile dans la pulpe a été mis en évidence (Morcillo et al. 2013). *EgLIP1* est apparu comme le gène contrôlant ce caractère ou lié étroitement à d'autres facteurs contrôlant son activité. En dehors des descendants de DA115D de la population Deli, le déterminisme génétique de l'acidité n'a pas été étudié au niveau d'autres

populations de palmier à huile, notamment dans le groupe B. La faible acidité étant récessive, il est nécessaire d'entreprendre également cette étude sur les palmiers du groupe B où des individus présentant cette propriété pourraient être identifiés. Ceci contribuerait à produire des hybrides commerciaux à faible acidité. Aussi, la génétique de ce caractère semble plus complexe.

Wong et al. (2015) suspectent ainsi la manifestation d'au moins deux gènes. La présente étude a pour objectif d'analyser la variabilité de l'acidité dans le fruit au sein de la diversité du genre *Elæis*, en particulier dans la diversité existante dans les groupes A et B, et d'approfondir le mécanisme de transmission de ce caractère.

**MATERIELS ET METHODES**

**Matériel végétal :** Le matériel végétal utilisé est constitué de fruits de régimes mûrs de palmiers adultes plantés au centre de recherches agricoles plantes pérennes (CRA-PP) de Pobè, au Sud Est du Bénin et déterminé par les coordonnées 2° 15" - 2° 45" E et 6 ° -7+ 45" N. Les échantillons ont été prélevés sur des palmiers à huile issus de première génération (G1) plantés entre 1964 et 1979, et sur des palmiers à huile de deuxième génération (G2) plantés entre 1992 et 2007. Un grand nombre d'individus (1183 palmiers à huile) appartenant à différentes familles supposées contenir des individus à forte acidité (HL) et/ou des

individus à faible acidité (LL) (Tableau 1) ont été retenus pour conduire l'étude. Cet échantillon est composé de 1002 individus *E. guineensis*, 50 *E. oleifera* (issus de 7 origines), 35 individus hybrides issus de croisements entre les deux espèces et 96 individus issus de rétrocroisements de première génération ([backcross1 ou BC1], (*E.guineensis* x *E. oleifera*) x *E. guineensis*, avec leurs parents hybrides et *E. guineensis* inclus dans l'échantillon). Les 1002 individus *E. guineensis* comprennent 787 individus issus de 27 familles du groupe A et 215 individus issus de 13 familles du groupe B.

**Tableau 1 :** Matériel végétal utilisé pour l'analyse de variabilité phénotypique.

Matériel végétal étudié (espèces et leurs hybrides)	Nombre d'individus Classe HL	Nombre d'individus Classe LL	Total
Rétrocroisement de première génération (BC1)	85	11	96
<i>E. oleifera</i>	0	50	50
<i>E. guineensis</i> , groupe A	530	267	797
<i>E. guineensis</i> , groupe B	103	112	215
Hybrides interspécifiques	29	6	35
Total	747	446	1183

HL : classe des individus présentant une forte acidité, LL : classe comprenant les individus avec une faible acidité.

Dans ce travail, une origine génétique constitue un ensemble de palmiers à huile issus d'un individu appelé « fondateur » dont les parents ne sont pas connus. Les individus d'une même origine génétique couvrent donc différentes générations. Les différentes origines génétiques comportent plusieurs familles, le plus souvent sur les deux générations G1 et G2. G1 est composée des descendants des individus fondateurs Deli DA10D, DA115D et DA3D et La Mé LM2T et LM5T. G2 est composée d'autofécondations ou de croisements entre individus de la G1. La caractérisation des descendants permet d'apprécier la variabilité de l'acidité dans ces origines génétiques, de rechercher les sources de faible acidité et de faire une analyse de leur généalogie et des ségrégations afin d'expliquer le

mécanisme de transmission du caractère. Enfin, 7 individus issus de DA115D et leurs descendants issus d'autofécondation ont été pris dans la G1 et G2 (Tableau 2) pour estimer l'héritabilité au sens étroit. Dans les groupes A et B d'*E. guineensis*, au moins une dizaine d'individus ont été considérés pour la caractérisation phénotypique dans chaque famille, à l'exception de trois familles où cette caractérisation a porté sur 6 ou 9 individus (Tableau Supplémentaire 1). En ce qui concerne les *E. oleifera*, les hybrides interspécifiques et les BC1, le nombre d'individus par famille est plus faible, il varie entre 1 et 9. Les individus ont été pris au hasard. Sur chaque individu deux régimes ont été prélevés et constituent deux répétitions de l'individu concerné.

**Tableau 2 :** Statut des individus (parents et descendants) de l'origine génétique DA115D ayant servi à l'estimation de l'héritabilité ( $h^2$ )

Numéro du parent	Acidité moyenne du parent (%)	Nombre de descendants d'autofécondation	Génotype du parent
1	36.36	78	Hétérozygote
2	64.55	15	Homozygote (Forte acidité)
3	13.55	19	Homozygote (Faible acidité)
4	65.46	26	Homozygote (Forte acidité)
5	47.47	16	Hétérozygote
6	10.76	14	Homozygote (Faible acidité)
7	10.03	15	Homozygote (Faible acidité)

**Détermination de l'acidité :** Le phénotypage a consisté à déterminer le degré d'acidité (teneur en acides gras libres, AGL) dans les fruits par titrage à l'hydroxyde de potassium, selon la norme de l'association française de normalisation (AFNOR 1988) et suivant la méthode décrite par Morcillo *et al.* (2013). Cette acidité correspond à l'acidité maximale potentielle. A cet effet, les fruits ont été débarrassés du péricarpe pour récupérer le mésocarpe qui a été broyé et ensuite placé pendant 1 h dans une bouteille ambrée avant d'y ajouter de l'hexane, à raison de 10ml d'hexane pour 1 g de mésocarpe. Le mélange a été conservé à 5°C pendant 24h et l'huile a été obtenue après distillation du miscella.

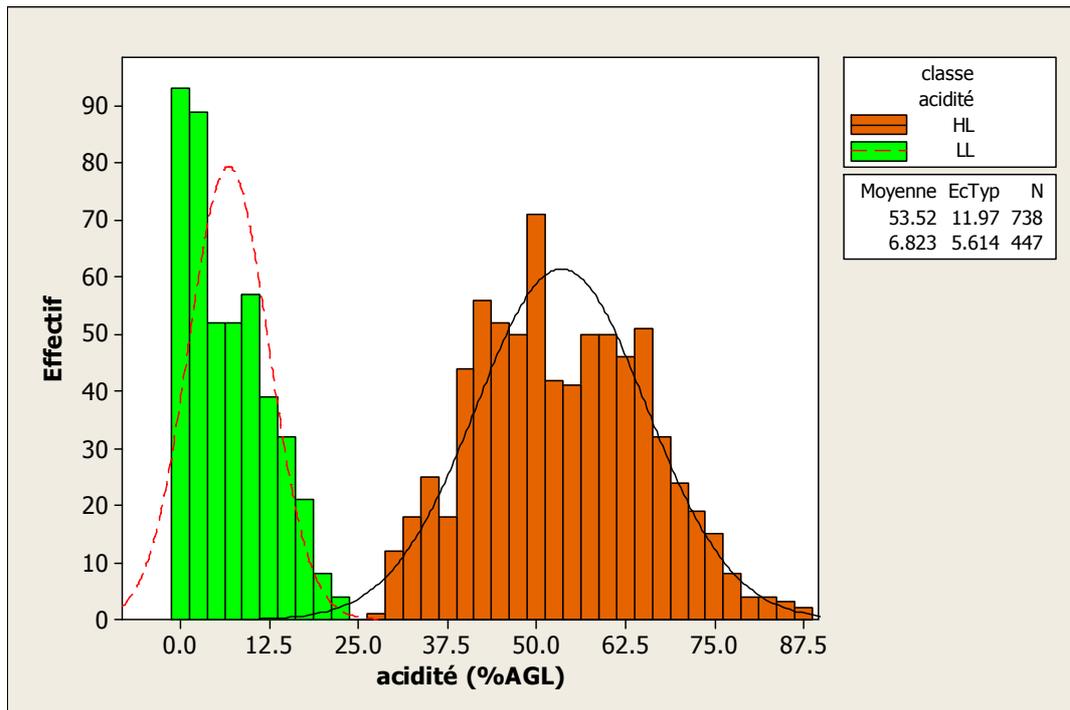
**Analyse des données :** Une représentation en histogramme a été réalisée avec le logiciel Minitab® v16 afin d'apprécier la distribution des valeurs d'acidité

au sein des origines génétiques et ainsi que les classes d'acidité. Une analyse de variance a été réalisée avec le logiciel d'analyses statistiques R v3.4 pour tester l'effet de l'espèce, de l'origine génétique, de la famille et de la classe d'acidité. La comparaison des moyennes d'acidité au sein du matériel végétal (espèces et groupes) a été réalisée à travers une structuration des moyennes en utilisant le test de Tukey. Un test de Khi2 a été réalisé pour vérifier l'adéquation entre les proportions obtenues au niveau des croisements où une ségrégation est observée pour le caractère acidité et les proportions attendues sous l'hypothèse d'un gène avec deux allèles dont un dominant et l'autre récessif. Enfin, l'héritabilité au sens étroit a été estimée à travers une régression parents-descendants.

## RESULTATS

**Analyse de variabilité phénotypique :** La distribution des valeurs individuelles d'acidité de l'huile du mésocarpe au sein de la population des 1183 individus était bimodale indiquant l'existence de deux classes (Figure 1), correspondant à la forte acidité (HL) et à la faible acidité (LL). Les individus de la classe HL avaient une teneur en AGL > 25% et les individus de la classe

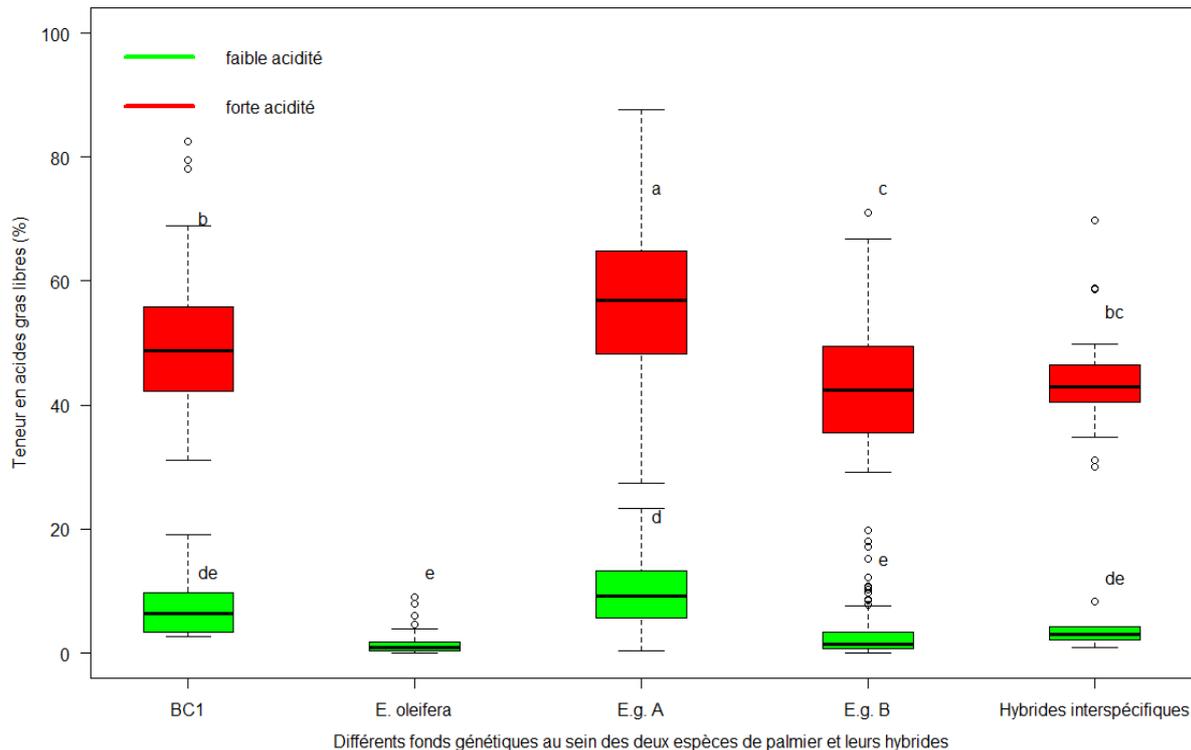
LL présentaient une teneur en AGL < 25%. Sur l'effectif total des individus caractérisés, 446 individus présentaient une faible acidité, avec une valeur d'acidité moyenne de 6,8% ( $\pm 5,6\%$  [écart type]), et 747 individus avec une forte acidité, de 53,5% ( $\pm 11,9\%$ ).



**Figure 1** : Distribution des valeurs individuelles d'acidité de l'huile du mésocarpe dans la population d'étude. HL : classe des individus présentant une forte acidité, LL : classe comprenant les individus avec une faible acidité, EcTyp : écart-type, N : 1183 individus

L'analyse des variances indiquait des différences significatives ( $p < 0.001$ ) entre les espèces de palmier à huile, entre les origines génétiques ainsi qu'entre familles. Il a été observé une variabilité importante de l'acidité avec des individus présentant une grande gamme de valeurs allant de 0 jusqu'à environ 88% d'AGL. La forte variabilité existante chez *E. guineensis*, les hybrides interspécifiques et les rétrocroisements

(Tableau Supplémentaire 2, Figure 2) montrait l'existence de variabilité au sein des origines génétiques avec des individus appartenant à l'une ou l'autre des classes d'acidité (faible ou forte). Chez les *E. oleifera* il était noté une faible variation et tous les individus présentaient en effet une faible acidité comprise entre 0 et 9% (Tableau Supplémentaire 2, Figure 2).



**Figure 2** : Distribution des valeurs d'acidité au sein du matériel végétal étudié : groupes A et B d'*E. guineensis* (E. g. A et E. g. B, respectivement), *E. oleifera* (E. o.), hybrides interspécifiques et première génération de rétrocroisements (BC1). Les boîtes à moustache représentent la variabilité observée : valeurs extrêmes, premier et troisième quartile, médiane. Les lettres a, b, c, d et e correspondent aux groupes obtenus en faisant une structuration des moyennes en procédant au test de Tukey.

De même, il est observé un coefficient de variation (CV) élevé (25-128%) au sein des classes HL et LL du groupe A d'une part, et au sein de la classe HL du groupe B d'autre part. Le CV est moins élevé (15%) au sein de la classe LL du groupe B (Tableau Supplémentaire 2, Figure 2). Au sein d'*E. guineensis*, des hybrides interspécifiques et des BC1, il est noté une différence significative entre classes d'acidité. La comparaison des moyennes a également révélé qu'au sein d'une même classe (faible ou forte) l'acidité diffère significativement entre les deux espèces, les hybrides et BC1 d'une part, et les groupes A et B de l'*E.*

*guineensis* d'autre part (Tableau Supplémentaire 2, Figure 2). Cependant la classe « faible acidité » dans le groupe B de l'*E. guineensis* est comparable à celle des *E. oleifera*. L'héritabilité au sens étroit calculée par la régression parents-descendants de familles de l'origine DA115D (Figure 3) est très élevée (>0.9) montrant ainsi que ce caractère est fortement héritable. Les variations de l'acidité observées seraient en grande partie dues à des facteurs génétiques additifs et le degré d'acidité des parents est assez fiable pour renseigner sur celui de leurs descendants.

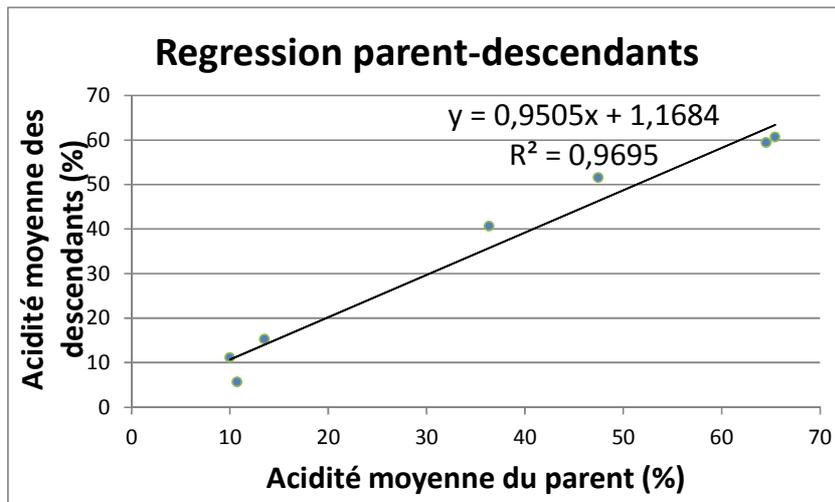
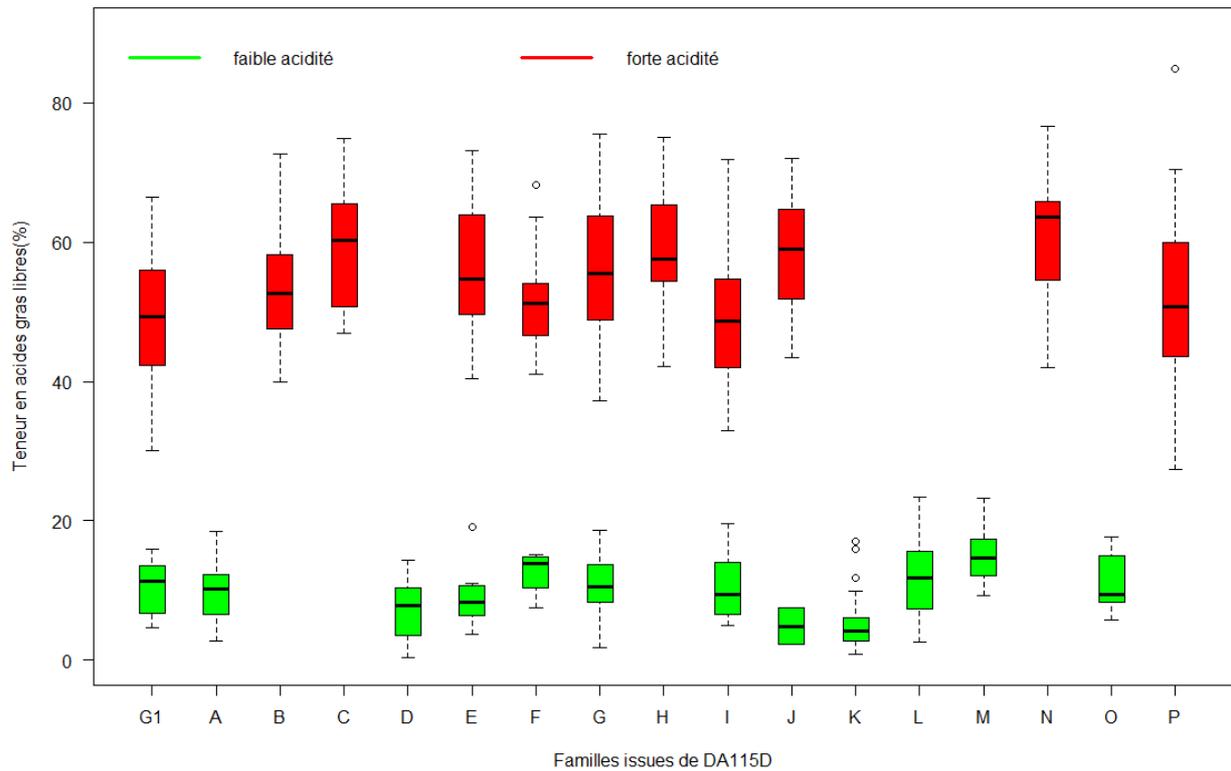


Figure 3 : Estimation de l'héritabilité de l'acidité dans l'origine DA115D. Elle est faite selon la régression entre la moyenne de chacun des 7 parents et celle de leurs descendants issus d'autofécondation

**Mode de transmission de l'acidité :** Afin de montrer le mode de transmission de l'acidité au niveau du genre *Elaeis*, il est présenté ici spécifiquement les résultats de quelques origines génétiques des groupes A et B d'*E. guineensis* et de matériel interspécifique. Les résultats obtenus avec ces matériels en cours d'amélioration, et qui font partie des origines les plus utilisées dans les programmes d'amélioration et de production de semences, seront rapidement utilisés pour optimiser la production de semences à faible acidité.

**Origines génétiques du groupe A de l'*E. guineensis* :** La caractérisation de l'acidité dans l'origine DA115D de *E. guineensis* (groupe A) a été représentée sur la figure 4. Elle présente sur l'axe des abscisses des familles de première génération (G1) et de seconde génération (A à P). Les boîtes à moustache représentent la distribution de l'acidité des individus de ces familles. La présence d'une seule boîte pour une famille donnée indique qu'elle n'est pas en ségrégation (boîte rouge pour les familles B, C, H, N, et P et ayant une forte acidité de l'huile ; ou verte pour les familles

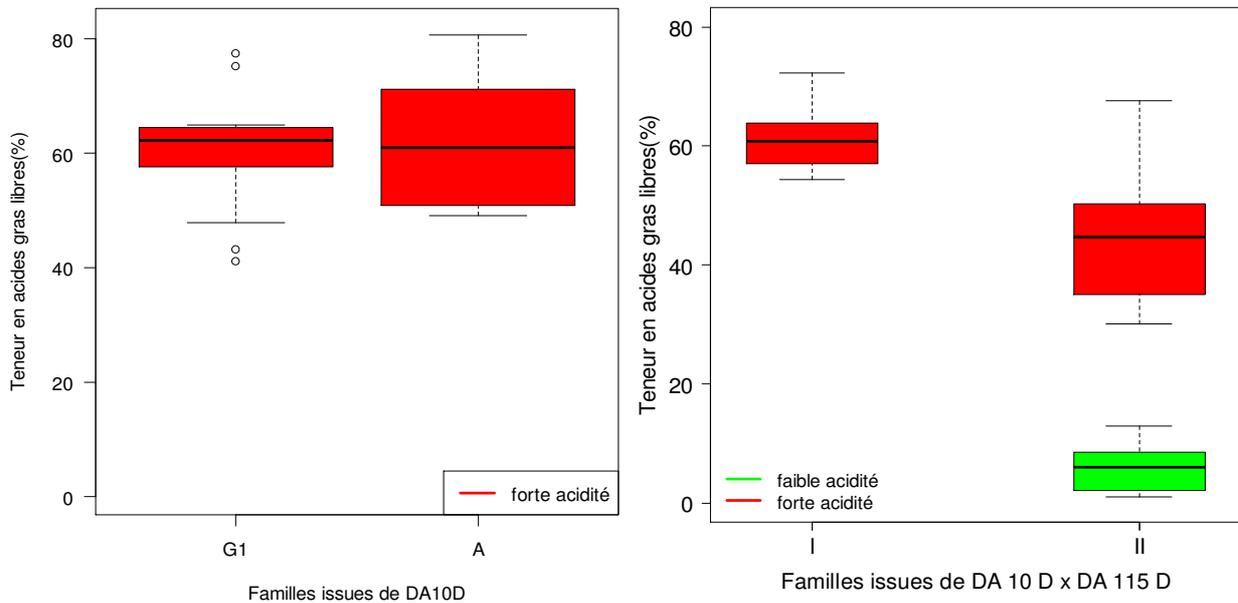
A, D, K, L, M et O présentant une faible acidité). Pour les autres (E, F, G, I et J) il y a donc ségrégation. Cette ségrégation au sein des familles de la G2 résultait de la ségrégation existant déjà dans la G1 (Figure 4). Les parents dont les autofécondations ont donné des descendants tous de la classe faible acidité appartenaient au lot d'individus avec une faible acidité (boîte verte) de G1. Par contre, les parents dont les autofécondations n'ont donné que des descendants à forte acidité ou une descendance en ségrégation faisaient partie des ensembles d'individus avec une forte acidité (boîte rouge) de G1. Le test de Chi2 (Tableau Supplémentaire 3) réalisé sur les descendances en ségrégation issues d'autofécondation a montré que les proportions observées correspondaient à la proportion 3 :1 attendue avec un gène ayant deux allèles et l'allèle LL récessif. Ceci confirme ainsi l'hypothèse d'un contrôle de l'acidité par un gène avec deux allèles dont la forte acidité domine la faible acidité.



**Figure 4** : Distribution de l'acidité dans l'origine DA115D de *E. guineensis* (groupe A). Sur l'axe des abscisses se présentent des familles de 1<sup>ère</sup> génération (G1, autofécondation de l'individu DA115D) et de deuxième génération (A à P, issues d'autofécondations et de croisements d'individus de G1). Les boîtes à moustache représentent la variabilité observée : valeurs extrêmes, premier et troisième quartile, médiane.

Dans les origines DA10D et DA10D x DA115D, il est possible de déduire le génotype des descendants à partir de ceux des parents fondateurs afin de confirmer l'hypothèse d'un contrôle par un gène à deux allèles dans ces origines du groupe A de l'*E. guineensis*. Chez DA10D, la G1 était homozygote à forte acidité. Ceci revient à dire que l'individu DA10D lui-même était homozygote à forte acidité (Figure 5). Il en est de même pour son descendant ayant donné, par autofécondation, des individus de seconde génération tous à forte acidité (Figure 5). Par contre, au niveau de

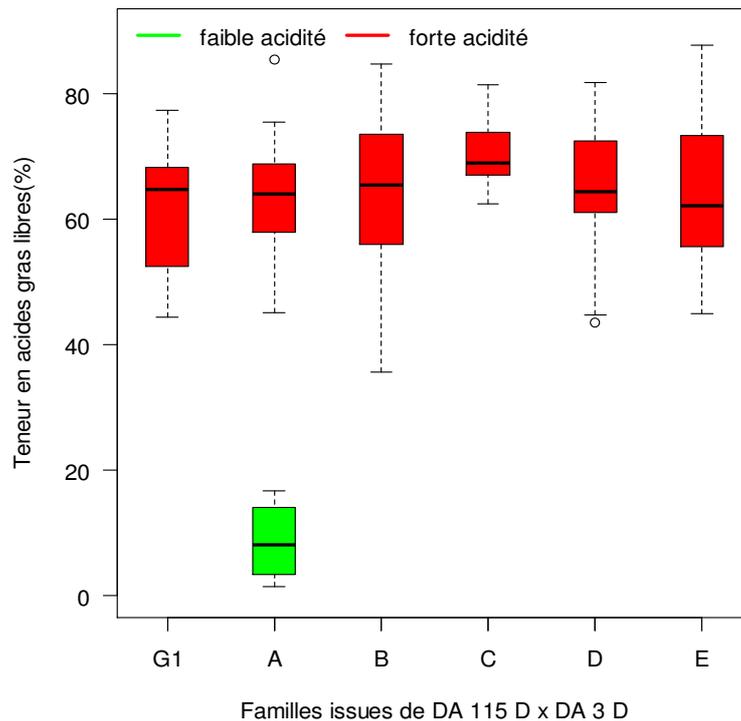
la seconde génération de DA10D x DA115D (croisement entre deux individus chacun issu du croisement DA10D x DA115D), il s'agit d'un fond génétique issu de deux individus dont DA115D, hétérozygote. Ainsi les résultats obtenus dépendaient de la combinaison d'allèles reçus des parents. Un premier croisement (A) avait donné uniquement des individus à forte acidité et par conséquent il s'agirait de parents homozygotes à forte acidité. Le second (B) a donné une descendance en ségrégation indiquant ainsi que ses parents seraient hétérozygotes.



**Figure 5 :** Caractérisation de l'acidité dans les origines DA10DAF et DA10D x DA 115D de *E. guineensis* (groupe A). Sur l'axe des abscisses se présentent des familles de 1<sup>ère</sup> génération (G1, autofécondation de l'individu DA10D) et de deuxième génération (A, I et II), issues d'autofécondations de G1 ou du croisement entre fondateurs DA10D et DA115D. Les boîtes à moustache représentent la variabilité observée : valeurs extrêmes, premier et troisième quartile, médiane.

La dernière origine caractérisée dans le groupe A de *E. guineensis* est le DA115D x DA3D (Figure 6). Étant donné qu'il n'y a pas eu une caractérisation d'individus issus de l'autofécondation de DA3D, le statut de ce dernier n'était pas connu. Ici seul le statut du parent DA115D était connu (hétérozygote) selon les résultats ci-dessus mentionnés. Les résultats obtenus dans cette origine (croisements entre deux individus chacun issu du croisement DA3D x DA115D) ont montré plusieurs descendance homozygotes à forte acidité et une descendance en ségrégation (Figure 6). La G1 est

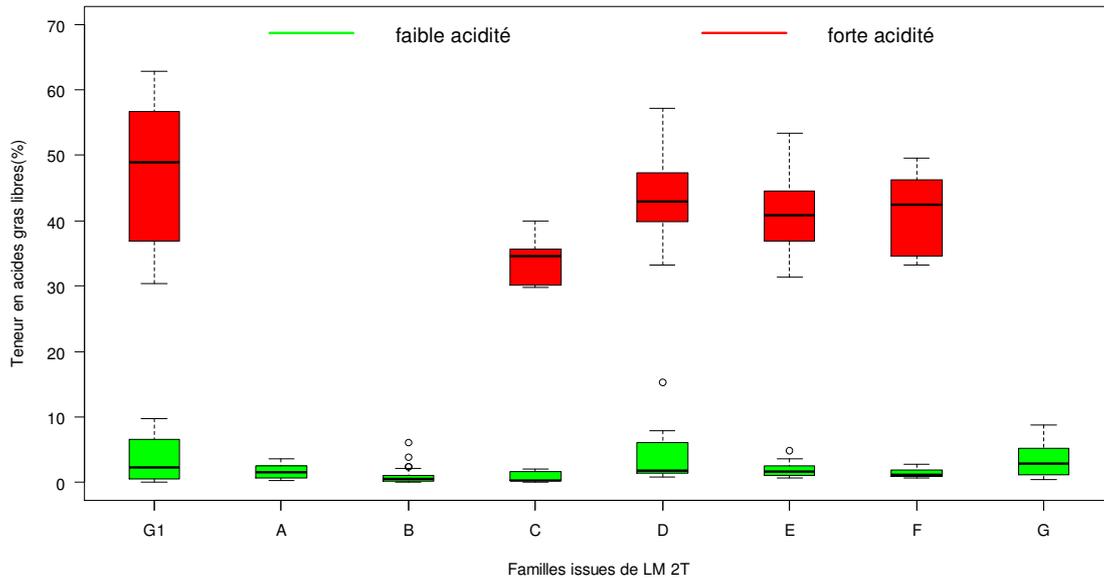
présentée sous une seule boîte à moustache comprenant des individus à forte acidité indiquant ainsi que DA3D serait homozygote (HL/HL). La famille en ségrégation serait alors issue de parents qui auraient hérité la faible acidité de DA115D, ou peut-être de DA3D dans le cas où DA3D serait hétérozygote (HL/LL), ce qui ne peut être complètement écarté vu que la G1 ne contenait que 7 individus. Dans ces origines génétiques du groupe A de *E. guineensis*, les résultats restent cohérents avec ceux obtenus dans DA115D (un gène à deux allèles, dont LL récessif).



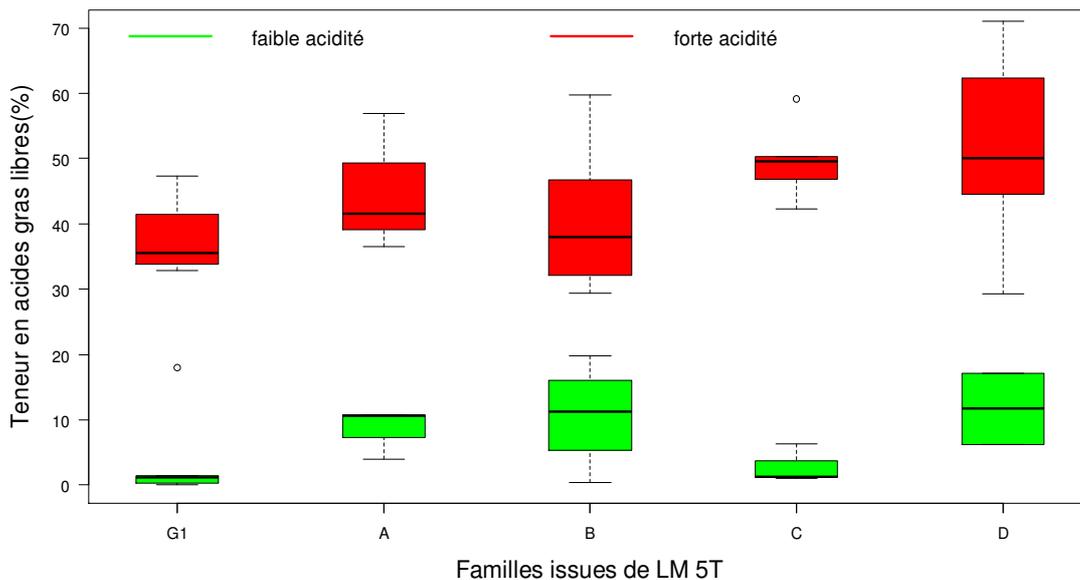
**Figure 6** : Caractérisation de l'acidité dans l'origine DA115D x DA3D de *E. guineensis* (groupe A). Sur l'axe des abscisses se présentent des familles de 1<sup>ère</sup> génération (G1, croisement entre géniteurs fondateurs DA115D et DA3D) et de deuxième génération (A à E, issues d'autofécondations et de croisements d'individus de G1). Les boîtes à moustache représentent la variabilité observée : valeurs extrêmes, premier et troisième quartile, médiane.

**Origines génétiques du groupe B de l'*E. guineensis*** : Les résultats obtenus dans le groupe B ont montré que les géniteurs fondateurs LM2T et LM5T étaient des hétérozygotes, comme le DA115D dans le groupe A. Dans les origines LM2T et LM5T (Figure 7, Figure 8) la première génération G1 s'est révélée en ségrégation pour l'acidité. Il est observé en seconde génération chez LM2T des descendance homozygotes à faible acidité et des descendance en ségrégation (Figure 7). Le degré d'acidité des individus de la classe « faible acidité » est plus faible (en général

<10%) comparativement à la même classe au niveau du groupe A. Les proportions obtenues dans les ségrégations au sein des origines LM2T et LM5T ont été testées par test de Chi2 (Tableau Supplémentaire 3) et confirment également l'hypothèse de contrôle par un gène à deux allèles dont la « forte acidité » était dominante et la « faible acidité » récessif. Chez LM5T, le degré d'acidité des individus de la classe « faible acidité » est plus élevé que dans l'origine LM2T, avec des valeurs allant jusqu'à 20% (Figure 8), comme dans le groupe A.



**Figure 7 :** Caractérisation de l'acidité dans l'origine LM2T d'*E. guineensis* (groupe B). Sur l'axe des abscisses se présentent des familles de 1<sup>ère</sup> génération (G1, autofécondation de l'individu LM2T) et de deuxième génération (A à G, issues d'autofécondations et de croisements d'individus de G1). Les boîtes à moustache représentent la variabilité observée : valeurs extrêmes, premier et troisième quartile, médiane.



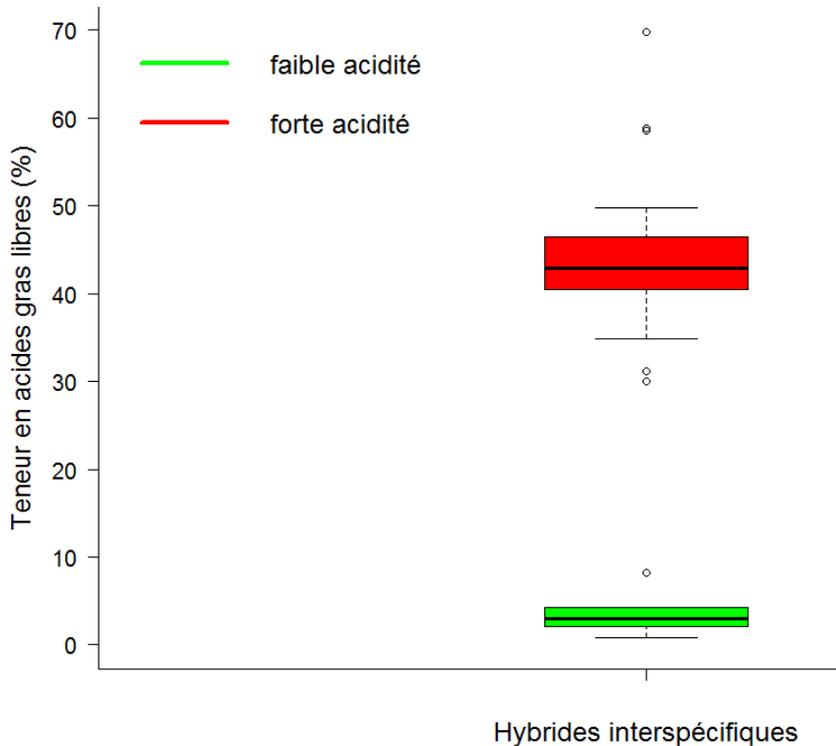
**Figure 8 :** Caractérisation de l'acidité dans l'origine LM5T d'*E. guineensis* (groupe B). Sur l'axe des abscisses se présentent des familles de 1<sup>ère</sup> génération (G1, autofécondation de l'individu LM5T) et de deuxième génération (A à D, issues d'autofécondations et de croisements d'individus de G1). Les boîtes à moustache représentent la variabilité observée : valeurs extrêmes, premier et troisième quartile, médiane.

**Origines génétiques de l'*E. oleifera*, hybrides interspécifiques et rétrocroisements :** Au sein des origines d'*E. oleifera* les individus présentent une faible acidité. Les hybrides interspécifiques sont issus de croisements entre *E. oleifera* et *E. guineensis*. L'analyse de notre échantillon d'hybrides a montré une

gamme de valeurs d'acidité semblable à celle obtenue chez *E. guineensis*. Il a aussi été observé une ségrégation dans certaines familles avec l'existence de deux classes d'acidité (Figure 9). Les hybrides à faible acidité de notre échantillon étaient toujours observés dans des familles dont le parent *E. guineensis* était un

hétérozygote (HL/LL) de l'origine La Mé, de laquelle il pouvait hériter l'allèle « faible acidité ». L'acidité des individus hybrides dépendrait alors de celle du parent

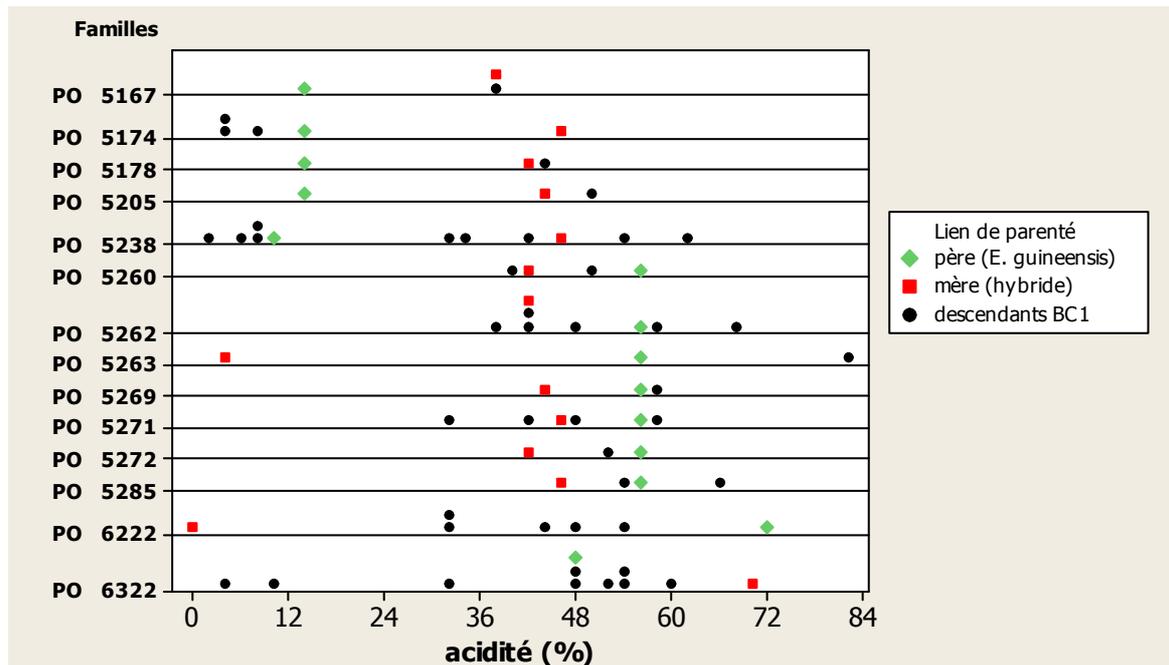
*E. guineensis* utilisé, le seul capable de transférer la forte acidité, étant donné que les *oleifera* sont de faible acidité.



**Figure 9** : Caractérisation de l'acidité des hybrides interspécifiques. Sur l'axe des abscisses se présente l'ensemble des individus hybrides de l'étude. Les boîtes à moustache représentent la variabilité observée : valeurs extrêmes, premier et troisième quartile, médiane.

En ce qui concerne les BC1, ils appartiennent à des familles ayant un faible nombre d'individus. Une analyse de l'acidité des individus de plusieurs familles et de leurs parents (hybrides et *E. guineensis*) a montré que lorsque le parent *E. guineensis* est de faible acidité et le parent hybride à forte acidité et donc hétérozygote (famille PO 5238 par exemple), il existe une ségrégation au sein de ces individus BC1 (Figure 10). Cette ségrégation est également observée dans la famille PO 6322 dont les deux parents sont hétérozygotes (Figure 10). A cause de la sous-représentation de plusieurs familles, on ne saurait faire un test de Chi2 pour confirmer l'adéquation entre les proportions observées et les proportions attendues

sous l'hypothèse d'un gène avec deux allèles. Par contre lorsque le parent *E. guineensis* est homozygote à forte acidité, il n'est obtenu que des individus BC1 à forte acidité, même si les hybrides sont hétérozygotes à forte acidité comme dans la famille PO 5262 (Figure 10) ou à faible acidité comme dans PO 6222 (Figure 10). Les descendances de backcross de 1ère génération présentent donc une disjonction selon les allèles reçus de chaque parent et la forte acidité observée chez *E. guineensis* reste dominante. Les résultats obtenus dans le matériel interspécifique sont donc cohérents avec ceux obtenus dans DA115D (un gène à deux allèles, dont LL récessif).



**Figure 10 :** Caractérisation de l'acidité d'individus de différentes familles de rétrocroisements de première génération (BC1) et de leurs parents *E. guineensis* et hybride interspécifique. Chaque symbole (point noir, losange vert ou carré rouge) représente un individu appartenant à la famille indiquée en début de ligne (en ordonnée) et possédant une valeur d'acidité projetée en abscisse. Sur chaque ligne sont présentés les descendants BC1 (points noirs) d'une famille donnée et les parents *E. guineensis* (losange vert) et hybride interspécifique (carré rouge), N=74 individus dont les parents *E. guineensis* et hybrides interspécifiques. Une famille est en ségrégation lorsqu'elle comporte des individus des deux classes d'acidité (faible : <25% et forte : >25%).

## DISCUSSION

### Variabilité de l'acidité selon le matériel végétal :

L'acidité ne varie pas de la même manière chez les deux espèces *E. guineensis* et *E. oleifera*. Les individus *E. oleifera* présentent tous une faible acidité et la variabilité chez cette espèce est plus faible qu'au sein de la classe « faible acidité » de l'espèce *E. guineensis*. Chez cette dernière, la variabilité est assez forte et l'acidité diffère significativement selon les origines génétiques et les croisements réalisés. Il est observé pour les deux groupes A et B d'*E. guineensis* une différence significative entre les classes « faible acidité » des groupes A et B puis entre les classes « forte acidité » de ces groupes. En effet, dans le groupe B les valeurs des individus à faible acidité sont plus faibles que chez les individus LL du groupe A. On remarque que la « forte acidité » du groupe A est bien plus forte que celle du groupe B. Tout ceci met en évidence une variabilité intra et inter groupes. Chez les hybrides interspécifiques et les BC1, la différence entre origines et familles n'est pas significative pour une même classe. Ceci pourrait être dû au fait qu'elles étaient trop peu représentées et qu'elles impliquaient

une assez grande diversité de parents *E. guineensis* et *E. oleifera*. Même si l'acidité varie moins au sein des BC1 que chez les *E. guineensis*, la variabilité y est globalement élevée car il s'agit d'une première génération où le caractère n'est pas encore fixé (tout comme chez les *E. guineensis*).

### Intérêt pour l'amélioration de la qualité de l'huile :

La caractérisation des individus selon leur degré d'acidité permet également de déduire le génotype des différents fondateurs utilisés dans le programme d'amélioration au CRA-PP et dans d'autres centres de recherche. Ceci permet de cibler des origines dans lesquelles l'allèle « faible acidité » ségrège et d'identifier finalement des individus à faible acidité. De précédentes études (Likeng-Li-Ngue et al. 2016; Morcillo et al. 2013) ont uniquement caractérisé des fonds génétiques du groupe A et identifié des familles à faible acidité. Nos résultats ont permis d'identifier, dans les matériels en cours d'amélioration des deux groupes A et B du schéma de sélection, des descendance homozygotes à faible acidité. Ceci est d'un grand intérêt pour l'amélioration et pour la production de

semences. En ce qui concerne la production de semences, il sera désormais possible d'utiliser les dura des descendances à faible acidité du groupe A comme parents femelles d'une part, et les pisifera, femelles stériles, des descendances à faible acidité du groupe B comme parents mâles d'autre part. Le croisement résultant constituera du nouveau matériel dont l'huile sera faiblement acide. En termes d'amélioration génétique, la connaissance du statut individuel au sein du matériel végétal en cours d'amélioration permettrait une meilleure utilisation en mettant l'accent sur les familles possédant l'allèle « faible acidité » au moment de la sélection pour produire la nouvelle génération des deux groupes parentaux.

#### **Compréhension de la transmission de l'acidité :**

Tous les individus *E. oleifera* caractérisés dans notre étude présentaient une faible acidité. Ceci est en adéquation avec les études jusque-là effectuées sur les *E. oleifera* montrant que ceux-ci présentent toujours une faible acidité (Cadena et al. 2013; Ngando Ebongue et al. 2008; Sambanthamurthi et al. 2000). Contrairement aux *E. guineensis* où il a été observé deux classes d'acidité (faible et forte), une seule classe existe donc chez les *E. oleifera*. Une situation similaire existe chez l'espèce *E. oleifera* pour le caractère monogénique épaisseur de la coque, pour lequel il existe une classification en trois types variétaux (dura, tenera et pisifera) chez *E. guineensis*, mais uniquement le type dura chez les *E. oleifera*. Les espèces *E. guineensis* et *E. oleifera* auraient divergé il y a environ 51 millions d'années (Singh et al. 2013). On pourrait émettre l'hypothèse que l'allèle « forte acidité » est apparu soit chez *E. guineensis* après la séparation de ces deux espèces, soit avant, mais dans ce cas il aurait alors été perdu chez *E. oleifera*. Le fait d'avoir une gamme de valeurs d'acidité pratiquement semblable entre les hybrides interspécifiques et les *E. guineensis* permet de dire que l'acidité chez les individus hybrides dépend de l'allèle hérité du parent *E. guineensis*, comme indiqué par Cadena et al. (2013). L'acidité d'un individu hybride n'est faible que lorsqu'il reçoit un allèle « faible acidité » du parent *E. guineensis*. De même, l'acidité chez les BC1 dépend des allèles hérités des

deux parents. Pour un individu BC1, l'acidité est faible lorsqu'il reçoit à la fois un allèle « faible acidité » de son parent *E. guineensis* et de son parent hybride. L'allèle « forte acidité » est présent chez les *E. guineensis*. Lorsqu'au moins un des parents est homozygote à forte acidité, les descendants sont forcément homozygotes à forte acidité ou hétérozygotes. Ceci confirme la dominance de l'allèle « forte acidité » de l'*E. guineensis* quelle que soit l'origine génétique et l'espèce. Certains auteurs (Likeng-Li-Ngue et al. 2016; Morcillo et al. 2013; Ngando Ebongue et al. 2008) ayant travaillé essentiellement dans quelques fonds Deli du groupe A chez *E. guineensis* avaient conclu à un contrôle de l'acidité par un gène avec deux allèles. A travers la présente étude, cette caractérisation étendue à d'autres fonds génétiques des groupes A et B et à du matériel interspécifique combinant *E. guineensis* et *E. oleifera* confirme à l'échelle du genre *Elaeis* le contrôle du degré d'acidité par un seul gène, avec la faible acidité récessive. La classe « forte acidité » du groupe A est significativement différente de celle du groupe B et des hybrides et BC1. Au sein des différentes origines, le test de Chi2 a confirmé l'hypothèse de ségrégation 3 :1 abondant dans le sens d'un déterminisme monogénique, correspondant à la conclusion précédemment tirée par Morcillo et al. (2013). La différence entre les deux classes d'acidité (faible et forte) est qualitative, et peut donc s'expliquer par un seul gène. Cependant, il est observé une variation importante au sein d'une même classe d'acidité. Au vu de la variation de l'acidité entre origines et entre espèces, même pour une même classe d'acidité, le déterminisme de l'acidité des fruits paraît donc plus complexe que ne suppose une hypothèse monofactorielle. Des gènes mineurs sont vraisemblablement aussi impliqués. Les variations au sein d'une classe donnée résulteraient donc de l'effet de gènes à effets faibles, comme pour un caractère quantitatif. Ceci conduit à dire que le contrôle de l'acidité par un gène majeur semble général sur l'ensemble du genre *Elaeis*, mais que l'implication d'autres gènes (mineurs) est probable.

#### **CONCLUSION**

Il existe pour l'acidité une différence hautement significative et une grande variabilité entre les deux espèces *E. guineensis* et *E. oleifera* mais aussi entre origines génétiques au sein d'*E. guineensis*. La variabilité mise en évidence pourra servir de base pour un programme d'amélioration par une utilisation plus

rationnelle des fonds à faible acidité. L'existence de descendances homozygotes à faible acidité rend possible la production de semences pour produire de l'huile à faible acidité. Il est clair qu'un gène majeur est à la base de la variation de l'acidité observée, mais des gènes mineurs seraient impliqués. Il serait plausible de

penser que soit le déterminisme de l'acidité est le même chez les deux espèces (un gène avec deux allèles dont la « faible acidité, LL » récessive) et que les *E. oleifera* ont un seul des deux allèles (le LL), soit qu'il existe un autre allèle « faible acidité » chez les *E. oleifera* et qui aurait un effet semblable à celui d'*E. guineensis*. Il pourrait être envisagé de séquencer la diversité au niveau du genre pour rechercher ces

allèles. La présente étude ouvre des pistes pour la production de semences de catégorie « faible acidité » et la recherche des autres gènes contribuant à la manifestation de la variation de l'acidité chez *E. guineensis*. Des marqueurs de ces gènes de lipase ou d'acidité pourraient servir à analyser la diversité génétique et être utilisés pour la sélection assistée par marqueurs de matériels à faible acidité de l'huile.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Centre de recherches agricoles plantes pérennes (CRA-PP) de Pobè et le Programme Cadre d'Appui à la Diversification agricole (ProCAD) du Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche (MAEP) du Bénin à travers le Projet de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest (PPAAO) pour la mise à disposition de ressources nécessaires à l'accomplissement de cette étude. Ils remercient

également la société PalmElit S.A et particulièrement Monsieur Bruno Nouy, l'un des principaux instigateurs ayant encouragé la réalisation de cette étude et contribué activement au choix du matériel végétal. Les auteurs se montrent très reconnaissants envers les relecteurs anonymes dont les commentaires et suggestions ont permis d'améliorer la qualité du présent article.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abigor DR, Opoku RA, Opute FI, Osagie AU. 1985. Partial purification and some properties of the lipase present in oil palm (*Elaeis guineensis*) mesocarp. *J. Sci. Food Agric.* 36: 599–606.
- AFNOR. 1988. *Recueil des normes françaises sur les corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés*. 4e édition. Association Française de Normalisation : Paris.
- Cadena T, Prada F, Perea A, Hernán MR. 2013. Lipase activity, mesocarp oil content, and iodine value in oil palm fruits of *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, and the interspecific hybrid O×G (*E. oleifera* × *E. guineensis*). *J. Sci. Food Agric.* 93:674–680; doi:10.1002/jsfa.5940.
- Codex Alimentarius. 2015. Norme pour les huiles végétales portant un nom spécifique (CODEX STAN 210-1999; Adoptée en 1999. Amendement: 2005, 2011, 2013, 2015. Révision: 2001, 2003, 2009.
- Codex Alimentarius/FAO/WHO. 2005. Norme alimentaire pour huiles et graisses. CODEX-STAN 210.
- Corley RHV, Tinker PB. 2016. *The Oil Palm*. 5e ed. Oxford, United Kingdom. John Wiley & Sons, Ltd.
- Demol J, Baudoin JP, Louant BP, Marechal R, Mergeai G, Otoul E. 2002. Le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). In: *Amélioration des plantes, application aux principales espèces cultivées en régions tropicales*. (J. Demol, J.P. Baudoin, B.P. Louant, R. Marechal, G. Mergeai, et E. Otoul, éd). Presses agronomiques:Gembloux. Belgique. 1–23.
- Desassis A. 1957. L'acidification de l'huile de palme. *Oléagineux* 12 : 525–534.
- Domonhédó H. 2010. Déterminisme génétique et sélection de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) à faible acidité en République du Bénin. Mémoire de DEA. Université d'Abomey-Calavi. République du Bénin. Université d'Abomey-Calavi (Benin).
- Durand-Gasselín T, Cochard B, Amblard P, Nouy B. 2009. Exploitation de l'hétérosis dans l'amélioration génétique du palmier à huile (*Elaeis guineensis*). *Le Sélectionneur Français* 60: 91–100.
- Durand-gasselín T, Blangy L, Picasso C, Breton F, Amblard P, Cochard B, et al. 2010. Sélection du palmier à huile pour une huile de palme durable et responsabilité sociale. *OCL* 17: 385–392.
- Durand-gasselín T, de Franqueville H, Breton F, Amblard P, Jacquemard J-C, Syaputra I, et al. 2011. Breeding for sustainable palm oil. *Int. Semin. Breed. Sustain. Oil Palm*. 178–193.
- Henderson J, Osborne D. 1991. Lipase activity in ripening and mature fruit of the oil palm. Stability in vivo and in vitro. *Phytochemistry*. 30: 1073–1078.
- Likeng-Li-Ngue BC, Bell JM, Ngando-Ebongue GF, Ntsomboh GN, Ngalle HB. 2016. Genetic determinism of oil acidity among some DELI oil

- palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) progenies. African J. Biotechnol. 15:1841-1845; doi:10.5897/AJB2016.15461.
- Morcillo F, Cros D, Billotte N, Ngando-Ebongue G-F, Domonhédó H, Pizot M, 2013. Improving palm oil quality through identification and mapping of the lipase gene causing oil deterioration. Nat. Commun. 4:2160. doi:10.1038/ncomms3160; doi:10.1038/ncomms3160.
- Ngando Ebongue GF, Dhoubi R, Carrière F, Amvam Zollo PH, Arondel V. 2006. Assaying lipase activity from oil palm fruit (*Elaeis guineensis* Jacq.) mesocarp. Plant Physiol. Biochem. 44:611-617; doi:10.1016/j.plaphy.2006.09.006.
- Ngando Ebongue GF, Koono P, Nouy B, Zok S, Carrière F, Amvam Zollo PH, Arondel, V. 2008. Identification of oil palm breeding lines producing oils with low acid values. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 110:505-509; doi:10.1002/ejlt.200700263.
- Ngando Ebongue GF. 2009. Étude de la lipase endogène du mésocarpe du fruit du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) : Application à la sélection de lignées à faible acidité de l'huile. Thèse de Doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2. Bordeaux (France). Thèse de Doctorat. Université Victor Segalen Bordeaux 2. Bordeaux (France).
- Nurniwalis AW, Siti Nor Akmar A, Chan PL, Manaf MA. 2007. Isolation of a cDNA encoding a lipase class 3 family protein from oil palm (*Elaeis guineensis*, Jacq.). Proc. PIPOC 2007 Int. palm oil Congr. "Agriculture, Biotechnol. Sustain. 1011-1020.
- Nurniwalis AW, Suhaimi N, Siti Nor Akmar A, Aminah S, Mohamad Arif MA. 2008. Gene discovery via expressed sequence tags from the oil palm (*Elaeis guineensis*, Jacq.) mesocarp. J. Oil Palm Res. 2: 87-96.
- Nurniwalis AW, Zubaidah R, Siti Nor Akmar A, Zulkifli H, Mohamad Arif MA, Massawe FJ, Chan K.L., Parveez G.K.A. 2015. Genomic structure and characterization of a lipase class 3 gene and promoter from oil palm. Biol. Plant. 59: 227-236.
- Rival A, Levang P. 2014. *Palms of controversies: Oil palm and development challenges*. Bogor, Indonesia : CIFOR.
- Sambanthamurthi R, Oo K, Parman S. 1995. Factors affecting lipase activity in *Elaeis guineensis* mesocarp. Plant Physiol. Biochem. 33: 353-359.
- Sambanthamurthi R, Rajanaidu N, Parman SH. 2000. Screening for lipase activity in the oil palm. J. Harwood et P.J. Quinn, éd. Biochem. Soc. Trans. 28: 769-770.
- Singh R, Ong-Abdullah M, Low E-TL, Manaf MAA, Rosli R, Nookiah R, Ooi L.C.-L., Ooi S.-E., Chan K.-L., Halim M.A., Azizi N., Nagappan J., Bacher B., Lakey N., Smith S.W., He D., Hogan M., Budiman M. a, Lee E.K., Desalle R., Kudrna D., Goicoechea J.L., Wing R., Wilson R.K., Fulton R.S., Ordway J.M., Martienssen R. A, Sambanthamurthi, R. 2013. Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in Old and New worlds. Nature 500:335-339; doi:10.1038/nature12309.
- USDA. 2017. Oilseeds: world market and trade. Foreign Agricultural Service, Circular Series March 2017. <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> (consulté le 3.16.17).
- Wong YT, Kushairi A, Rajanaidu N, Osman M, Wickneswari R. 2015. Screening of wild oil palm (*Elaeis guineensis*) germplasm for lipase activity. J. Agric. Sci. 154:1241-1252; doi:10.1017/S0021859615001112.