

## Aptitude à la déshydratation des embryons zygotiques de palmier à huile et de palmier dattier : étude de l'expression de gènes LEA

Frédérique ABERLENC-BERTOSSI<sup>(1)\*</sup>, Djibril SANÉ<sup>(2)</sup>,  
Abdourahman DAHER<sup>(3)</sup>, Alain BORGEL<sup>(1)</sup>, Yves DUVAL<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> IRD, UMR BEPC, 911 avenue Agropolis, Centre de Montpellier,  
BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

<sup>(2)</sup> Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques,  
Université Cheikh Anta Diop, BP5005, Dakar-Fann, Sénégal

<sup>(3)</sup> ISV-CERD, route de l'Aéroport, BP 486, Djibouti, République de Djibouti

**Abstract: Aptitude for dehydration of oil palm and date palm zygotic embryos: study of LEA gene expression.** Seed banks allow the long term storage of dehydrated orthodox seeds at low temperatures. However, many fruit-bearing and forest species from temperate or tropical areas produce seeds referred to as recalcitrant since they are sensitive to dehydration or cold temperatures and are not able to be preserved by classical methods. Alternative solutions, such as the culture or the conservation of shoot apices, calli or embryos are sought in species of this type. The acquisition of desiccation tolerance is generally a condition for the success of these methods. LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins are a group of molecules that may play an important role in the protection of cellular integrity during dehydration. These proteins are typically expressed during seed maturation or in vegetative tissues in response to water, salt or cold stress. In this study, *Lea* genes were investigated in two species of the Arecaceae: date palm, which is adapted to arid regions and produces orthodox seeds; and oil palm, which is native to humid tropical regions and which produces semi-recalcitrant seeds. Em-like and dehydrin-like genes belonging respectively to groups 1 and 2 of the LEA family were identified in oil palm. One of the oil palm genes, named *Egdehyd-1*, encoded a deduced dehydrin type protein of 131 amino acids and a molecular mass of 14 kDa. A partial sequence of a date palm dehydrin-like gene *PdEDehyd15* was obtained by PCR-based cloning. The oil palm and date palm dehydrin genes contain the typical K segment EKKGIMDKIKEKLPG and encode YSK<sub>2</sub>-type dehydrins. An oil palm Em-like gene, *EgEmZ08*, was identified in an EST collection. This gene encodes a predicted protein of 90 amino acids and a molecular mass of 97 kDa. A partial sequence of a date palm Em-like gene called *PdEm-1* was also obtained by PCR-based cloning. The deduced oil palm and date palm Em-like protein sequences contained the «Small hydrophilic plant seed protein signature». Expression of LEA genes was studied by semi-quantitative RT-PCR in palm zygotic embryos during *in planta*

---

\* Correspondance et tirés à part : aberlenc@mpl.ird.fr

maturation and *in vitro* germination. The four palm LEA genes were observed to display the same expression pattern. Transcripts were showed a strong accumulation during late embryogenesis. Expression decreased at the beginning of *in vitro* germination and transcripts were not detected from 8 days. This study is the first characterisation of LEA gene in palms. It constitutes a first step in the study of the possible role of the LEA genes in the determination of desiccation tolerance of oil palm and date palm embryos.

**dehydrin/ early methionine labelled/ *Elaeis guineensis*/ late embryogenesis abundant/ *Phoenix dactylifera***

**Résumé :** La conservation à long terme des ressources génétiques d'espèces à semences récalcitrantes nécessite l'utilisation de technologies comme la conservation d'organes ou de tissus. Les mécanismes d'acquisition de la tolérance à la déshydratation conditionnent généralement la réussite de ces méthodes. Les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant) qui seraient impliquées dans la protection des structures cellulaires pendant la déshydratation, sont généralement fortement exprimées pendant la maturation des graines ou dans les tissus végétatifs en réponse aux stress. L'expression de gènes LEA a été étudiée chez le palmier dattier, espèce adaptée aux zones arides et produisant des semences orthodoxes, et le palmier à huile adapté aux zones tropicales humides dont les semences sont semi-récalcitrantes. Des gènes Em-like et dehydrin-like appartenant à la famille des LEA ont été identifiés chez ces deux espèces. L'expression de ces gènes a été analysée par RT-PCR semi-quantitative au cours de la maturation et de la germination des embryons zygotiques. Chez ces deux espèces, les gènes dehydrin-like et Em-like présentent des profils caractéristiques d'expression pendant les étapes tardives de l'embryogenèse zygotique. Cette étude constitue une première étape dans l'étude du rôle des LEA dans la tolérance à la déshydratation des embryons de palmier à huile et de palmier dattier.

**dehydrin/ early methionine labelled/ *Elaeis guineensis*/ late embryogenesis abundant/ *Phoenix dactylifera***

## 1. INTRODUCTION

Dans le cadre de la gestion des ressources génétiques, les banques de semences permettent de conserver à basses températures les graines déshydratées sur le long terme. De telles semences qui supportent la déshydratation sont appelées orthodoxes [20]. Cependant, de nombreuses espèces fruitières et forestières des régions tempérées et tropicales produisent des semences dites récalcitrantes, sensibles à la déshydratation ou au froid, ne pouvant être conservées par des méthodes classiques. Des solutions alternatives, comme la culture *in vitro* ou la cryoconservation de tissus, de méristèmes végétatifs, d'embryons zygotiques ou somatiques, sont alors utilisées [9]. Les mécanismes d'acquisition de la tolérance à la dessiccation conditionnent générale-

## Expression de gènes LEA dans les embryons de palmier

ment la réussite de ces méthodes. Une connaissance approfondie des processus qui déterminent la tolérance à la dessiccation est donc indispensable pour la maîtrise des protocoles de conservation des espèces considérées. Les tissus pouvant tolérer la perte de la quasi-totalité de leur eau intra- et extracellulaire ont développé des adaptations pour protéger les composants cellulaires des dégâts liés à la déshydratation. Plusieurs mécanismes agissant probablement conjointement ont été décrits [18]. Parmi ces mécanismes se trouvent notamment l'élimination des radicaux libres, le ralentissement du métabolisme et l'accumulation de sucres et de protéines [18]. Les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant), généralement fortement accumulées pendant la maturation des graines et dans les tissus végétatifs exposés aux stress hydrique, salin et au froid, seraient impliquées dans le maintien des composants cellulaires et notamment de la structure des protéines pendant la déshydratation [6], [12], [23].

Les protéines LEA sont majoritairement composées d'acides aminés hydrophiles ordonnés en séquences répétées. Sur la base des similarités de séquences, les protéines LEA ont été divisées en cinq groupes [8], [23]. Les protéines du groupe 1 auquel appartiennent les protéines Em (early methionine-labeled protein), possèdent le motif «Small Hydrophilic Plant Seed Protein» [23]. Les protéines du groupe 2 correspondent aux déhydrines (dehydration-induced proteins) et possèdent les motifs Y, S, K [4]. Les protéines du groupe 3 possèdent des motifs répétés de 11 acides aminés qui forment des structures en hélices  $\alpha$  amphipathiques [12]. Les protéines des groupes 4 et 5 formeraient également des hélices  $\alpha$  dans leur parties N-terminales.

De nombreux travaux mettant en évidence une corrélation positive entre l'expression de gènes de protéines LEA et l'adaptation à la déshydratation ont été rapportés [6]. De plus, le rôle protecteur des LEA chez les plantes soumises au stress hydrique a été clairement montré par la sur-expression de la protéine HVA1 chez le riz [24].

Les protéines déhydrines joueraient un rôle de surfactant et préviendraient la coagulation des macromolécules, participant ainsi au maintien de leur intégrité [5]. D'après les propriétés physico-chimiques d'une protéine Em de blé, Cuming and Lane [7] ont proposé que les protéines Em soient impliquées dans le maintien d'un taux d'hydratation minimal permettant la protection du contenu cellulaire dans les semences déshydratées. Des travaux récents chez *Arabidopsis thaliana* utilisant des mutants knockout du gène ATEM6 ont montré que les graines du mutant présentent une déshydratation et une maturation précoce [15]. L'une des fonctions des protéines Em seraient ainsi de réguler la perte en eau intervenant pendant la maturation de

l'embryon. Néanmoins, des travaux complémentaires s'avèrent nécessaires pour mettre en évidence le mode d'action des protéines LEA.

Le palmier à huile et le palmier dattier sont des plantes tropicales d'intérêt économique appartenant à la famille des *Arecaceae*. Le palmier dattier est adapté aux écosystèmes arides et produit des semences orthodoxes pouvant être conservées pendant environ 15 ans à température ambiante. Le palmier à huile est en revanche adapté aux climats tropicaux humides et ses semences semi-récalcitrantes se déshydratent après la chute des fruits et ne se conservent que pendant 2 à 3 ans. L'intérêt de l'étude de ces modèles végétaux réside dans le fait que ces espèces appartiennent à la même famille mais présentent des comportements contrastés vis à vis de leur adaptation aux conditions de stress hydrique et de l'aptitude à la conservation de leurs semences.

L'objectif de ce travail est donc de caractériser chez le palmier à huile et le palmier dattier, des gènes Em-like et dehydrin-like, de la famille des LEA, et d'étudier leur expression au cours de la maturation *in planta* et de la germination *in vitro* des embryons zygotiques. A plus long terme, cette approche permettra d'évaluer l'importance des protéines LEA dans l'aptitude à la déshydratation et à la conservation de leurs graines.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1. Matériel végétal

Les embryons zygotiques de palmiers à huile ont été prélevés dans des graines hybrides *dura*  $\times$  *pisifera*, catégorie C1001 obtenues après pollinisation manuelle en champs semenciers. Les graines ont été fournies par la station de recherche de l'INRAB à Pobé (Bénin). Les embryons zygotiques sont prélevés de 80 à 165 jours après la pollinisation (JAP) et après 2 à 16 jours de germination *in vitro*. Pour les essais de germination, les graines ont été rincées puis cassées pour en extraire l'amande, après imbibition pendant 5 jours dans de l'eau contenant du Benlate à 0,1 % sous agitation. Les amandes ont ensuite été désinfectées à l'hypochlorite de sodium (24° Cl) et rincées à l'eau stérile. Les embryons ont été prélevés stérilement et placés en germination *in vitro* sur un milieu de base contenant des macroéléments de Murashige et Skoog modifiés par Rabéchaux et Martin [19], des micro-éléments de Nitsch [17], du myo-inositol (100 mg.l<sup>-1</sup>), de l'ascorbate de sodium (100 mg.l<sup>-1</sup>), des vitamines de Morel et Wetmore [16] et du saccharose (30 g.l<sup>-1</sup>). Avant stérilisation, le pH a été ajusté à 5 et 2 g.l<sup>-1</sup> de phytagel ont été ajoutés. Les embryons ont été placés en salle de culture sous 12 h de lumière à 45  $\mu$ mol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, à 27 °C. 5 à 50 em-

## Expression de gènes LEA dans les embryons de palmier

bryons ont été prélevés pour chaque stade de développement et ont été conservés dans l'azote liquide pour les analyses.

Les embryons zygotiques de palmier dattier ont été excisés de graines récoltées à Dakar (Sénégal). Les embryons ont été prélevés 117, 144 et 161 jours après la floraison, et après 2, 4, 8, 12, 16 et 20 jours de germination *in vitro*. Après imbibition des graines sèches dans l'eau pendant 2 jours, les embryons zygotiques ont été excisés et placés en germination *in vitro* dans les conditions de culture décrites précédemment.

### 2.2. Identification des gènes LEA de palmier

Les gènes de palmier ont été recherchés dans les collections d'EST de palmier à huile développée au laboratoire [13] et dans les bases de données moléculaires publiques du NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Pour le palmier à huile, des gènes dehydrin-like (pKT5, accession AF236067), Em-like (EgEmZ08, accession DQ399790) et un gène témoin d'expression codant un facteur d'élongation 1-alpha (EF1- $\alpha$ 1, accession AY550990) ont été retenus. Les gènes de palmier dattier *PdDehyd15* (accession DQ399792), *PdEm1* (accession DQ399791) et *PdEF1 $\alpha$ -12* (accession DQ399793) ont été identifiés par amplification PCR à l'aide d'amorces hétérologues de palmier à huile (tabl. I).

**Tableau I.** Séquences des amorces utilisées pour les réactions PCR. Pour l'identification des gènes de palmier dattier après amplification PCR à l'aide d'amorces hétérologues de palmier à huile, les PCR ont été réalisées dans les conditions suivantes : 3 min de dénaturation à une température de 95 °C, puis 35 cycles comprenant une hybridation de 30 s à 50 °C, une extension d'1 min à 72 °C, et une dénaturation 30 s à 95 °C, suivie d'une élongation de 10 min à 72 °C. Pour les études d'expression par RT-PCR, 25 cycles ont été réalisés dans les conditions décrites plus haut.

Nom		Gène cible	Séquence de l'amorce
EgDehydS3	sens	EgDehyd1	5'-GACGAGTACGGCAACCCGATC-3'
EgDehydAS3	antisens	EgDehyd1	5'-CTTTCCATCATCCCCITCIT-3'
EgDehydS4	sens	EgDehyd1	5'-CGGTGGTGC GGTCACCGCGGG-3'
		<i>PdDehyd15</i>	
EgDehydAS4	antisens	EgDehyd1	5'-CAGTCTGGCCGTGCTCCTC-3'
		<i>PdDehyd15</i>	
EgEmZ08S1	sens	EgEmZ08	5'-AGGCAACTCGGCAGGAGAGGGC-3'
EgEmZ08AS1	antisens	EgEmZ08	5'-CCCTGCGATCAGATAGTTCCTG-3'
EgEF1S2	sens	EgEF1 $\alpha$ 1	5'-GGTGGAAGCAGATGATTGTC-3'
EgEF1AS3	antisens	EgEF1 $\alpha$ 1	5'-GCAGACTTGGTGACCTTGCC-3'
EgEF1AS2	antisens	EgEF1 $\alpha$ 1	5'-CCTGGATCATGTCAAGAGCC-3'
PdEmS1	sens	PdEm1	5'-CTCGAGGCCAAGAGCATCTGGC-3'
PdEmAS1	antisens	PdEm1	5'-CCTCCGACTCCTCCATGGT-3'
PdEF1S2	sens	PdEF1 $\alpha$ -12	5'-GGATGATCCTGCGAAGGAGGC-3'
PdEF1AS2	antisens	PdEF1 $\alpha$ -12	5'-CAACAGTCTGGCGCATGTCC-3'

Les produits PCR ont été ligués dans un vecteur pGEM-T Easy (Promega) et transformés dans la souche d'*Escherichia coli* JM 109 selon les instructions du fournisseur. Les ADN plasmidiques ont été isolés des transformants en utilisant le kit Qiaquick PCR purification kit (Qiagen) et séquencés (GenomExpress, Meylan). Les séquences identifiées ont été placées dans les bases de données (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>).

### 2.3. Analyse de l'expression par RT-PCR semi-quantitative

Les embryons prélevés ont été finement broyés dans l'azote liquide et 200 à 400 mg de broyat ont été utilisés pour l'extraction des ARN totaux à l'aide du kit RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). Le kit RNeasy Lipid Tissue Kit a été employé pour les embryons zygotiques prélevés au cours de la maturation, riches en réserves lipidiques. Les ARN ont été traités à la DNase sur colonne selon les instructions du fournisseur (Qiagen). La synthèse des ADNc a été réalisée par Reverse Transcription (RT) à partir de 1 µg d'ARN totaux (kit ImProm-II<sup>TM</sup> Reverse Transcription System, Promega). Les PCR ont été réalisées à l'aide d'amorces homologues spécifiques (tabl. I). Les fragments amplifiés ont été analysés par électrophorèse en gel d'agarose à 1,5 % et révélés sous rayons UV après coloration au bromure d'éthidium (BET). Les séquences des produits PCR ont été contrôlées après clonage pour vérifier la spécificité de l'amplification.

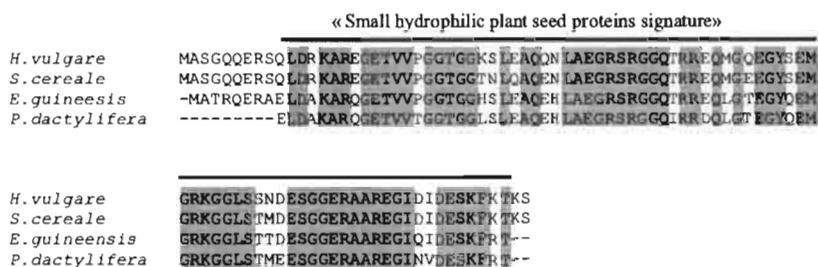
## 3. RÉSULTATS

### 3.1. Analyse des séquences de gènes LEA de palmier

Plusieurs séquences partielles d'un gène appelé *Egdehyd1* ont été identifiées dans la collection d'EST de palmier à huile du laboratoire. Ces séquences correspondent à un gène déhydrin-like de palmier à huile précédemment placé dans les bases de données du NCBI (clone pKT5, accession AF236067). La séquence protéique déduite du gène *Egdehyd1* est présentée sur la figure 1. Le polypeptide prédit possède 131 acides aminés pour une masse moléculaire de 14 kDa et un point isoélectrique de 8,39. La glutamine qui représente 26 % des acides aminés totaux, confère une nature hydrophile à la protéine.

Les motifs caractéristiques des gènes de la famille des déhydrines [4] ont été identifiés dans la séquence protéique déduite du palmier à huile (fig. 1). Il s'agit des motifs Y, (V/T)DEYGNP à la position 9 ; S, une suite de résidus sérine, à la position 71 et de deux motifs K, EKKGIMDKIKEKLP, appelés K1 et K2 aux positions 94 et 138 respectivement.





**Figure 2 :** Comparaison des séquences en acides aminés déduites des gènes Em d'*Elaeis guineensis* *EgEmZ08*, de *Phoenix dactylifera* *PdEm1*, d'*Hordeum vulgare* LEA B19-1 (X62804) et de *Secale cereale* Early-methionine-labelled polypeptide, (CAB88087). L'alignement des séquences est réalisé avec le logiciel ClustalW. Le domaine « Small hydrophilic plant seed proteins signature » est surligné.

Les protéines Em-like des deux espèces de palmier présentent des similarités de séquence avec le polypeptide Early-methionine-labelled de *Secale cereale* (CAB88095), la protéine LEA B19.1 d'*Hordeum vulgare* (CAA4462), la protéine Em H5 de *Triticum aestivum* (CAB59731) et la protéine ATEM6 d'*Arabidopsis thaliana* (NP-181546).

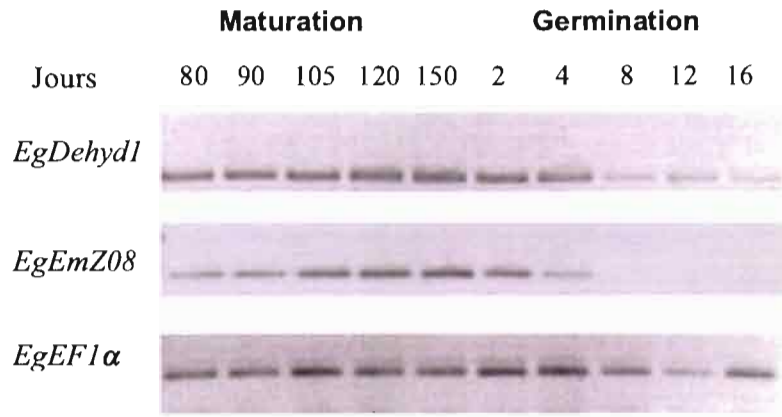
### 3.2. Analyse de l'expression des gènes LEA dans les embryons zygotiques de palmier

L'expression des gènes de déhydrine et de Em a été étudiée au cours de la maturation *in planta* et de la germination *in vitro* des embryons zygotiques de palmier à huile et de palmier dattier. Au cours des étapes plus précoces de l'embryogenèse, la faible taille des embryons n'a pas permis leur analyse. L'expression des gènes a été suivie par RT-PCR avec des amorces spécifiques. L'expression du gène du facteur d'élongation *EgEF1α* a été utilisée comme témoin.

Chez le palmier à huile, les transcrits du gène *EgDehyd1* sont accumulés dans les embryons zygotiques au cours des étapes tardives de l'embryogenèse (80-150 jours après la pollinisation) et jusqu'à 4 jours de germination *in vitro* (fig. 3). A partir de 8 jours de germination, les embryons présentent une forte croissance se traduisant par une augmentation importante de leur masse de matière fraîche (résultats non montrés). Les transcrits du gène *EgDehyd* sont alors nettement moins détectés. Les transcrits du gène *EgEmZ08* sont également majoritairement accumulés pendant la maturation des embryons (105-150 jours après la pollinisation). Le signal diminue pendant les 4 premiers jours de germination *in vitro* puis n'est plus détecté à partir de 8 jours.

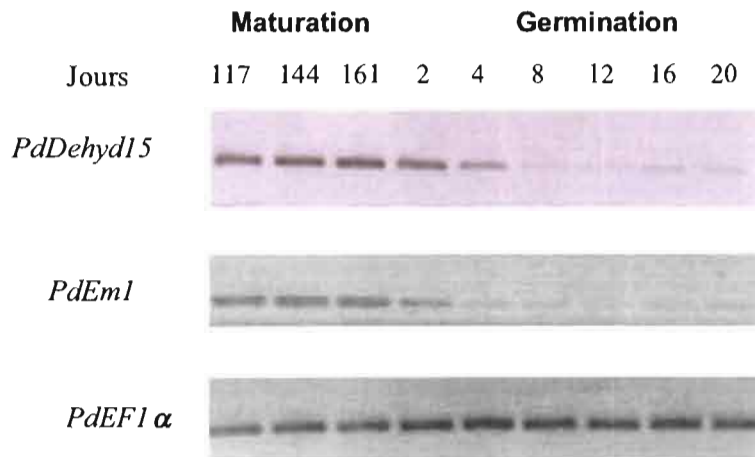


Expression de gènes LEA dans les embryons de palmier



**Figure 3** : Étude par RT-PCR de l'évolution de l'expression des gènes *EgEdehyd1* et *EgEMZ08* au cours de la maturation *in planta* et de la germination *in vitro* des embryons zygotiques de palmier à huile. *EgEF1α* est un gène témoin.

De même, les gènes de palmier dattier *PdDehyd15* et *PdEm1* sont fortement exprimés en fin d'embryogenèse zygotique (117-161 JAP) (fig. 4). Leur expression décroît en début de germination entre 2 et 4 jours *in vitro* puis disparaît à partir de 8 jours. Comme dans le cas du palmier à huile, la disparition des transcrits des gènes LEA est associée à une forte reprise de croissance des embryons de palmier dattier lors de la germination *in vitro* (résultats non montrés).



**Figure 4** : Étude par RT-PCR de l'évolution de l'expression des gènes *PdDehyd15* et *PdEm1* au cours de la maturation *in planta* et de la germination *in vitro* des embryons zygotiques de palmier dattier. *PdEF1α* est un gène témoin.

#### 4. DISCUSSION

Les déhydrines sont des protéines LEA du groupe 2 qui se répartissent en cinq types selon les motifs caractéristiques contenus dans leurs séquences [4], [5]. Les déhydrines de type  $Y_nSK_2$  sont les plus fréquemment rencontrées, elles ont tendance à être fortement induites par la déshydratation. Le type  $K_n$  ne contient pas les motifs Y et S et a tendance à être induit par le froid. Les types  $K_nS$  ont été identifiés comme étant induits par le froid et la déshydratation. Les deux autres types  $SK_n$  et  $Y_2K_n$  sont deux déhydrines de type hybride. Des gènes dehydrin-like ont été caractérisés chez le palmier à huile et le palmier dattier. Les motifs Y, S K1 et K2 étant identifiés dans les séquences protéiques déduites des gènes *Egdehyd1* et *PdDehyd15*, il s'agit donc de déhydrines de type  $YSK_2$ . Les séquences dehydrin-like de palmier sont très proches de celles des déhydrines identifiées chez le maïs et l'orge dont les gènes sont exprimés dans des graines germées en réponse à la déshydratation [6].

Les protéines Em, sont des protéines LEA du groupe 1 qui ont été mises en évidence chez plusieurs espèces végétales. Comme dans le cas des gènes de déhydrine, les gènes Em-like des deux espèces de palmier présentent les plus fortes similarités de séquence avec des gènes décrits chez des espèces monocotylédones qui sont exprimés dans les graines déshydratées et en réponse à des stress osmotiques [10].

Les gènes de déhydrine et de Em appartiennent à des familles multigéniques [10], [21]. Il serait donc intéressant de poursuivre les études décrites ici par la recherche d'autres gènes chez les deux espèces de palmier pour mieux comprendre la diversité de fonctions au sein de chaque groupe.

Les travaux rapportés dans la littérature font apparaître que l'expression des gènes LEA intervient essentiellement pendant les étapes tardives du développement des graines [5], [12]. De même, les expériences de RT-PCR montrent que les gènes dehydrin-like et Em-like de palmier à huile et de palmier dattier présentent des profils caractéristiques d'expression pendant les étapes tardives de l'embryogenèse zygotique. Ces travaux ont également démontré que les gènes de palmier sont exprimés dans les embryons en début de germination *in vitro* pendant les phases correspondant à l'imbibition des embryons. En revanche, les transcrits ne sont quasiment plus détectés lors de la reprise de croissance des jeunes germinations. Il est cependant nécessaire de compléter l'étude des transcrits des gènes LEA par l'analyse des protéines correspondantes seules susceptibles d'être impliquées dans la protection des tissus vis à vis de la déshydratation.

Pour le palmier dattier, les profils d'expression des gènes LEA sont cohérents avec le caractère orthodoxe de ses semences. La mise en évidence d'un

## Expression de gènes LEA dans les embryons de palmier

profil d'expression similaire des gènes LEA dans les embryons zygotiques de palmier à huile, malgré le caractère semi-récalcitrant des semences de cette espèce, pourrait s'expliquer par le fait que les embryons acquièrent néanmoins une tolérance complète à la dessiccation [2], même si la viabilité des graines est moins importante. De plus, l'accumulation des transcrits de dehydrine et de Em est associée à la déshydratation progressive des embryons zygotiques et à l'acquisition de la tolérance à la dessiccation qui ont lieu *in planta* entre 80 et 120 JAP [2]. D'une façon plus générale, il n'existe pas de relation systématique entre l'expression des gènes de LEA et l'aptitude à la déshydratation et à la conservation des semences [11], [22].

Les gènes LEA sont exprimés pendant les phases tardives de l'embryogenèse mais également en réponse à la déshydratation chez les plantes [6]. Cette réponse est fréquemment associée à l'accumulation d'acide abscissique (ABA) un régulateur de croissance [5], [10], [14]. Les gènes LEA seraient régulés par l'ABA au niveau transcriptionnel par la présence de motifs conservés de type ABRE dans leur promoteur [3], [14]. L'amélioration de la tolérance à la dessiccation des embryons somatiques de palmier à huile a été obtenue sous l'effet de stress osmotiques et de l'ABA [1]. Il serait donc intéressant de déterminer si cette amélioration de la tolérance est associée à une modification de l'expression des gènes LEA. Enfin, la réponse à la déshydratation des embryons somatiques pourrait être comparée entre les deux espèces de palmier.

Les travaux présentés constituent la première caractérisation de gènes de la famille des LEA chez des palmacées. Ces résultats représentent une première étape dans l'étude de la relation entre l'expression des gènes LEA et l'aptitude à la déshydratation des embryons de palmier à huile et de palmier dattier.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient l'INRAB (Pobé, Bénin) et l'UPR 128 du CIRAD (Montpellier, France) pour la fourniture des graines de palmier à huile. James Tregear est remercié pour sa relecture du manuscrit. Ce projet a été soutenu financièrement par le Bureau des Ressources Génétiques (BRG).

## RÉFÉRENCES

- [1] Aberlenc-Bertossi F., Chabrilange N., Duval Y., Abscisic acid and desiccation tolerance in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) somatic embryos, *Genet. Sel. Evol.* 33 (2001) S75-S84.

- [2] Aberlenc-Bertossi F., Chabrillange N., Corbineau F., Duval Y., Acquisition of desiccation tolerance in developing oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) embryos *in planta* and *in vitro* in relation to sugar content. *Seed Sci. Res.* 1 (2003) 3, 179-186.
- [3] Busk P.K., Pages M., Regulation of abscisic acid-induced transcription, *Plant Mol Biol.* 37 (1998) 425-435.
- [4] Campbell S.A., Close T.J., Dehydrins: genes, proteins, and associations with phenotypic traits, *New Phytol.* 137 (1997) 61-74.
- [5] Close T.J., Kortt A.A., Chandler P.M., A cDNA-based comparison of dehydration-induced proteins (dehydrins) in barley and corn. *Plant Mol. Biol.* 13 (1989) 95-108.
- [6] Close T.J., Dehydrins: emergence of a biochemical role for a family of plant dehydration proteins, *Physiol. Plant.* 97 (1996) 795-803.
- [7] Cuming A.C., Lane B.G., Protein synthesis in imbibing wheat embryos, *Eur. J. Biochem.* 99 (1979) 217-224.
- [8] Dure III L., Crouch M., Harada J., Ho T.D., Mundy J., Quatrano R., Thomas T., Sung Z.R., Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants, *Plant Mol. Biol.* 12 (1989) 475-486.
- [9] Engelmann F., Importance of cryopreservation for the conservation of plant genetic resources, in: Engelmann F. & Takagi H. (éds.). *Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and application*, JIRCAS, Tsukuba, Japan / IPGRI, Rome, Italy, 2000, pp. 8-20.
- [10] Espelund M., Saeboe-Larssen S., Hughes D.W., Galau G.A., Larsen F., Jakobsen K.S., Late embryogenesis-abundant genes encoding proteins with different numbers of hydrophilic repeats are regulated differentially by abscisic acid and osmotic stress, *Plant J.* 2 (1992) 241-252.
- [11] Gee O.H., Probert R.J., Coomber S.A., Dehydrin-like' proteins and desiccation tolerance in seeds, *Seed Sci. Res.* 4 (1994) 135-141.
- [12] Hong-Bo S., Zong-Suo L., Ming-An S., LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation, *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 45 (2005) 131-135.
- [13] Jouannic S., Argout X., Lechaue F., Fizames C., Borgel A., Morcillo F., Aberlenc-Bertossi F., Duval Y., Tregear J., Analysis of expressed sequence tags from oil palm (*Elaeis guineensis*), *FEBS lett.* 579 (2005) 2709-2714.
- [14] Kamisugi Y., Cuming A.C., The evolution of the abscisic acid-response in land plants: comparative analysis of group 1 LEA gene expression in moss and cereals. *Plant Mol. Biol.* 59 (2005) 723-737.
- [15] Manfre A.J., Lanni L.M., Marcotte W.R. Jr., The *Arabidopsis* group 1 Late Embryogenesis Abundant protein ATEM6 is required for normal seed development, *Plant Physiol.* 140 (2006) 140-149.
- [16] Morel G., Wetmore R.M., Fern callus tissue culture. *Am. J. Bot.* 38 (1951) 141-143.
- [17] Nitsch J.P., Experimental androgenesis in *Nicotiana*. *Phytomorphol.* 19 (1969) 389-404.
- [18] Oliver A.E., Leprince O., Wolkers W.F., Hinch D.K., Heyer A.G., Crowe J.H., Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying, *Cryobiology* 43 (2001) 151-167.

### Expression de gènes LEA dans les embryons de palmier

- [19] Rabéchault H., Martin J.P., Multiplication végétative du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) à l'aide de culture de tissus foliaires. C.R. Acad. Sc. Paris, Série D 283 (1976) 1735-1737.
- [20] Roberts H.F., Predicting the viability of seeds, Seed Sci. Technol. 1 (1973) 499-514.
- [21] Rodriguez E.M., Svensson J.T., Malatrasi M., Choi D.W., Close T.J., Barley Dhn13 encodes a KS-type dehydrin with constitutive and stress responsive expression, Theor. Appl. Genet. 110 (2005) 852-858.
- [22] Still D.W., Kovach D.A., Bradford K.J., Development of desiccation tolerance during embryogenesis in rice (*Oryza sativa*) and wild rice (*Zizania palustris*) (dehydrin expression, abscisic acid content, and sucrose accumulation), Plant Physiol. 104 (1994) 431-438.
- [23] Wise M.J., LEAping to conclusions: a computational reanalysis of late embryogenesis abundant proteins and their possible roles, BMC Bioinformatics 4 (2003) 52.
- [24] Xu D., Duan X., Wang B., Hong B., Ho T., Wu R., Expression of a Late Embryogenesis Abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice, Plant Physiol. 110 (1996) 249-257.

Aberlenc Bertossi Frédérique, Sané D., Daher A., Borgel Alain,  
Duval Yves (2006)

Aptitude à la déshydratation des embryons zygotiques de  
palmier à huile et de palmier dattier : étude de l'expression  
de gènes LEA

In : Ressources génétiques : des ressources partagées

Paris : BRG, (6), 401-413. (Les Actes du BRG ; 6). Colloque  
National du BRG : Ressources Génétiques : des Ressources  
Partagées, 6

ISBN 2-908-447-33-9