

CARACTÉRISATION PRÉLIMINAIRE MORPHOLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE DE CLONES DE CERISIER CULTIVÉS AU LIBAN (*PRUNUS AVIUM* L.)

A. Chehade, L. Chalak, A. Elbitar, P. Cosson¹, A. Zanetto¹, E. Dirlewanger¹
Institut de Recherches Agronomiques, P.O. Box 287 Zahlé, Liban
lchalak@lari.gov.lb

¹Institut National de la Recherche Agronomique, Unité de Recherches sur les Espèces
Fruitières et la Vigne, B.P. 81, F-33883 Villenave d'Ornon, France

(Received 8 April 2004 - Accepted 19 October 2004)

RÉSUMÉ

Cette étude a consisté en une caractérisation préliminaire de 16 clones de cerisier cultivés au Liban et localisés entre 800 et 1400 m d'altitude. Une fiche descriptive a été établie pour chacun d'entre eux avec 13 caractères précisant les périodes de floraison et de maturité ainsi que les caractères morphologiques de la feuille et du fruit. D'après l'analyse en composantes principales, le volume du noyau, la longueur du pétiole et celle de la feuille et le diamètre du fruit sont les critères le plus distinctifs entre les clones. L'ADN a été analysé avec 4 couples d'amorces d'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) qui ont permis de regrouper les clones selon la distance génétique estimée entre eux.

Mots clés: *Prunus avium* L., descripteurs morphologiques, marqueurs AFLP

ABSTRACT

This study is a preliminary characterization of 16 clones of cultivated cherry distributed in different zones of Lebanon at an altitude between 800 and 1400 m. Each clone was described using 13 traits involving flowering and maturity dates and morphological traits of leaves and fruits. Principal component analysis revealed that nut volume, petiole and leaf lengths and fruit diameter had a higher contribution to the total variation. The DNA analysis was performed with 4 AFLP primer combinations (Amplified Fragment Length Polymorphism) leading to cluster the different clones according to the genetic distance detected between them.

Keywords: *Prunus avium* L., morphological descriptors, AFLP markers

INTRODUCTION

Le cerisier (*Prunus avium* L.) appartient au genre *Prunus* regroupant lui-même d'autres espèces d'intérêt économique comme le cerisier acide (*Prunus cerasus* L.), le pêcher (*Prunus persica* (L.) Batsch), l'abricotier (*Prunus armeniaca* L.), l'amandier (*Prunus dulcis*

Mill) et le prunier européen (*Prunus domestica*) (Dosba *et al.*, 1994). Ils sont tous membres de la famille des *Rosaceae* qui occupe la troisième place au niveau économique dans les régions tempérées (Dirlewanger *et al.*, 2002).

La majorité des variétés de cerisier sont auto-incompatibles et certaines sont incompatibles entre elles constituant ainsi des groupes d'inter-incompatibilité. Dans les vergers commerciaux, la plantation de variétés compatibles entre elles et fleurissant simultanément s'impose pour assurer une bonne pollinisation et une nouaison correcte.

Introduit au Liban au début du siècle dernier, le cerisier s'accommode bien des conditions écogéographiques du pays, notamment les hautes altitudes qui permettent de satisfaire ses besoins en froid hivernal. A l'heure actuelle, le cerisier est l'une des rares espèces fruitières cultivées au Liban qui ne souffre pas de concurrence régionale. Ce fruit a une grande valeur économique et fait l'objet d'un important marché d'exportation vers les pays du Golfe Arabo-persique. La possibilité d'offrir une large gamme variétale permettra de maintenir une place privilégiée sur le marché international.

A ce jour, les clones cultivés au Liban n'ont pas encore été précisément décrits. Les noms authentiques sont peu connus aussi bien pour les producteurs que pour les pépiniéristes. Les clones ont été autrefois dénommés par les pépiniéristes en se référant à un caractère précis du fruit. D'autres dénominations semblent être une traduction en arabe du nom original du clone.

Bien qu'elles soient longues à réaliser (à maturité) notamment chez les espèces ligneuses, les méthodes traditionnelles de caractérisation physiologique et morphologique permettront d'identifier les clones et/ou variétés inconnus. Elles devront être complétées et/ou confirmées par une analyse de l'ADN avec des marqueurs moléculaires qui peuvent être appliqués assez rapidement et à différents stades de maturité. Fréquemment utilisée dans l'étude des populations et des écotypes, la technique d'AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), fondée sur l'amplification arbitraire ou dirigée de fragments de restriction génomique, permet d'engendrer un grand nombre de marqueurs sans exiger, au préalable, des informations concernant les séquences génomiques (Lin *et al.*, 1996; Mackil *et al.*, 1996; Alonso-Blanco *et al.*, 1998; Manubens *et al.*, 1999).

Cette étude a consisté à recenser et à collecter les différents clones de cerisier cultivés au Liban, et à les caractériser en terme morphologique, physiologique et moléculaire afin d'estimer la distance génétique entre eux.

MATERIELS ET METHODES

Prospection et caractérisation des sites

Une prospection a été organisée en 2000 et 2001 dans les principales zones de production de cerises au Liban (Figure 1). Les prospections ont permis de retenir 3 sites: Kousaya (caza de Zahlé), Kfertaye (caza du Metn) et Bayssour (caza d'Aley) en fonction de l'importance de leur aire de culture et d'un nombre maximum de clones plantés de cerisier. Les données du GPS ont permis de situer ces sites à une altitude comprise entre 800 (Bayssour) et 1400 m (Kfertaye), une latitude variant entre 33°45,673 (Bayssour) et

34°20,659 (Kfertaye) et une longitude allant de 35°34,008 (Bayssour) à 36°02,028 (Kousaya) (Tableau 1). Les températures hivernales minimales moyennes sont comprises entre -1 °C et 3,5 °C et les précipitations annuelles moyennes entre 600 et 1350 mm (Plassard, 1981). Le choix des vergers dans les sites a été effectué lorsque ceux-ci contenaient un nombre minimum de 50 arbres.

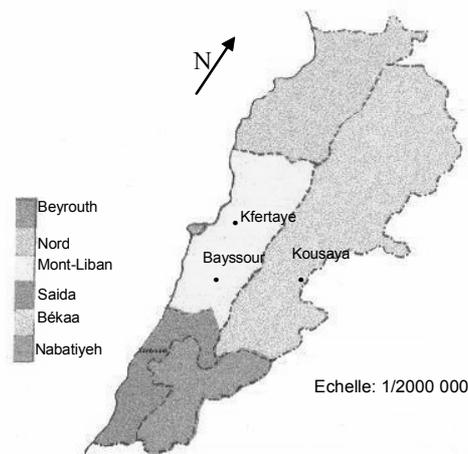


Figure 1. Localisation des 3 sites prospectés sur la carte du Liban.

Au total, 16 clones de cerisier ont été répertoriés dont 3 dans le site de Bayssour, 5 à Kfertaye et 8 à Kousaya.

Caractérisation morphologique

Pour chaque clone, 3 arbres ont été choisis et ceci en fonction de leur bon développement végétatif et de leur bon état sanitaire. Il s'agissait précisément d'arbres adultes produisant au moins depuis quatre ans, ne présentant pas de problème d'incompatibilité au greffage et ne manifestant pas de symptômes d'infection ou d'attaques parasitaires. Des échantillons de 45 feuilles et de 45 fruits mûrs répartis sur les trois arbres choisis (15 feuilles et 15 fruits par arbre) ont été prélevés pour la caractérisation de chaque clone.

Sept caractères ont été décrits et répartis en classes : date de floraison, date de maturité, forme et contour de la feuille, forme du fruit, couleur de l'épiderme et volume du noyau. Six autres caractères quantitatifs ont été mesurés: longueur et largeur de la feuille, longueur du pétiole, poids et diamètre du fruit et longueur du pédoncule.

Caractérisation moléculaire avec des marqueurs AFLP

L'ADN a été extrait à partir de jeunes feuilles prélevées en avril (sur un seul arbre par clone) selon la technique décrite par Shagai-Marooof *et al.* (1984). La technique AFLP a

été réalisée selon Vos *et al.* (1995). L'ADN est digéré par les enzymes de restriction *MseI* et *EcoRI* puis des adaptateurs doubles brins sont ligués à l'extrémité des fragments d'ADN. Les fragments subissent une première amplification pré-sélective en utilisant comme amorces des oligonucléotides correspondant à la séquence des adaptateurs prolongés en 3' par une base arbitraire. Les réactions d'amplification sont réalisées dans un thermo-cycleur avec une dénaturation de l'ADN à 95 °C pendant 30 s, fixation de l'amorce à 56 °C pendant 1 mn et élongation à 72 °C pendant 1 mn. Ce cycle est répété 28 fois. Cette étape permet de présélectionner les fragments possédant les bases complémentaires des bases utilisées. Ensuite, les fragments subissent une seconde amplification PCR dite sélective : les mêmes amorces sont utilisées mais prolongées en 3' d'une à deux bases supplémentaires. Quatre couples d'amorces d'AFLP, préalablement testées sur le cerisier par Tavaud *et al.* (2000), ont été utilisés dans cette étude (Tableau 6). L'amplification sélective se déroule en trois étapes consécutives : 1 cycle de 30 s à 94 °C, 30 s à 65 °C et 60 s à 72 °C, 12 cycles fondés sur la diminution progressive de 0,7 °C par cycle de la température d'hybridation et 24 cycles de 30 s à 94 °C, 30 s à 56 °C et 60 s à 72 °C. Les fragments sont révélés par électrophorèse sur gel d'acrylamide à 50°C suivie d'une autoradiographie (³²P).

Analyse des données

Les caractères quantitatifs évalués et répertoriés en classes (date de floraison, date de maturité et volume du noyau) sont notés selon les scores préalablement établis par l'IPGRI (Schmidt *et al.*, 1985). Pour les caractères mesurables, 45 répétitions par clone sont effectuées. Une analyse en composantes principales (ACP) est réalisée pour les caractères quantitatifs afin de valider les caractères considérés par leur contribution à la variation totale (Saporta, 1990). Le coefficient de corrélation est calculé entre les caractères quantitatifs (Dagnelie, 1986).

Concernant la caractérisation moléculaire, les résultats de présence ou d'absence de bandes sont convertis en une matrice (0, absence de la bande; 1 présence de la bande). Le pouvoir discriminant de chaque couple d'amorces est également calculé (Tessier *et al.*, 1999).

Les distances génétiques sont calculées à l'aide du logiciel NTSYS-pc 2.0 (Rohlf, 1997) en utilisant le programme SIMQUAL et le coefficient de similarité de Jaccard (1908). Le dendrogramme est réalisé en utilisant la méthode d'agrégation UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).

RESULTATS ET DISCUSSION

Caractérisation morphologique

Au total, 15 clones de *P. avium* (cerisier doux) et un seul clone de *P. cerasus* (cerisier acide) ont été recensés (Tableau 1). Pour chacun des clones, une fiche descriptive a été établie présentant les stades de floraison et de maturité ainsi que 11 caractères morphologiques de la feuille et du fruit (Tableaux 2, 3). Au cours de cette étude, seulement 9 clones ont été reconnus (nom probable) grâce aux caractères du fruit (date de maturité, forme, couleur, calibre).

Caractères regroupés en classes

D'une façon générale, la totalité des clones ont des feuilles de forme lancéolée à bordure crénelée, à l'exception du clone Karaz hamoud de cerisier acide qui présente des feuilles oviformes (Tableau 2). Trois formes du fruit sont notées, cordiforme, arrondie et réniforme, avec des couleurs variant selon les variétés entre le rouge noir, rouge foncé, rouge, rouge-jaune, rouge clair et rose (Tableau 2).

Un décalage d'environ 7 jours est noté pour les dates de floraison et de maturité entre les clones situés à 800 m d'altitude (Bayssour) et ceux situés entre 1250 et 1400 m (Kousaya et Kfertaye) (Tableau 2). Cette influence des facteurs écogéographiques sur les stades physiologiques est prise en considération en avançant de 7 jours le classement des clones cultivés en haute altitude. Les clones Nouwari, Nouwari-ferawni, Yabani et Zahri sont considérés hâtifs, fleurissant vers mi-mars, tandis que Aswad murr, Banni kasir et Banni tawil fleurissent tard à partir de la deuxième semaine d'avril; les 9 autres clones sont classés intermédiaires fleurissant début avril. Concernant la date de maturité, les clones Nouwari, Abiad, Aswad ukrani et Moukahal ukrani sont les premiers à être commercialisés, vers début mai, suivis des clones classés intermédiaires Banni et Ferawni entre le 20 mai et début juin. Enfin, à partir de 20 juin, viennent les clones tardifs, Aswad murr, Kalbeltair, Kawsozah et Soukari (Tableau 2).

Caractères quantitatifs mesurables

La mesure des caractères quantitatifs révèle que la longueur moyenne du limbe foliaire varie entre 6,2 (Karaz hamoud) et 15,1 cm (Abiad) et la largeur moyenne entre 3,5 (Karaz hamoud) et 8,2 cm (Nouwari-ferawni). La longueur moyenne du pétiole varie entre 1,5 (Karaz hamoud) et 3,8 cm (Ferawni tawil) (Tableau 3).

Le clone Banni kasir se distingue des autres clones par ses plus gros fruits (9,8 g; 27,9 mm) alors que le clone Yabani présente les fruits les plus petits (2,75 g; 16,7 mm) (Tableau 3).

Evaluation des variables

L'analyse en composantes principales (ACP) révèle que les trois composantes retenues représentent 81% de la variation totale (Tableau 4). La première composante représentant 39% de la variation totale, comprend essentiellement les caractères quantitatifs mesurés de la feuille et du fruit ainsi que le volume du noyau. La deuxième composante, expliquant 24 % de la variation totale est essentiellement constituée par la longueur du pédoncule. La troisième composante correspondant à 18 % à la variation totale comprend essentiellement la date de maturité.

Des corrélations significatives sont notées entre les caractères de la feuille (longueur, largeur et longueur du pétiole) et entre les caractères du fruit (poids et diamètre). La longueur de la feuille présente une corrélation positive significative avec la longueur du pédoncule (Tableau 5).

TABLEAU 1
Distribution des Cerisiers Etudiés et Description des Sites

Sites (Cazas)	Altitude (m)*	Latitude (°N)*	Longitude (°E)*	Température hivernale minimale moyenne (°C)**	Pluviométrie (mm)**	Clones	Nom probable de la variété
Bayssour (Mont- Liban)	800	33°45,673	35°34,008	3,5	1200	Moukahal ukrani	-
						Abiad	Stark-Gold
Kfertaye (Metn)	1400	34°20,659	35°48,635	-1	1350	Aswad ukrani	-
						Aswad murr	Van
						Banni tawil	-
						Nouwari-ferawni	Marmotte
						Zahri	Napoléon
Kousaya (Békaa)	1250	33°49,753	36°02,028	1	600	Karaz hamoud	Montmorency
						Banni kasir	Bing
						Itali	-
						Ferawni tawil	Hardy giant
						Kalbeltair	Napoléon
						Kaws kozah	Rainbow
						Nouwari	-
						Soukari	-
Yabani	-						

* , Données relevées par le GPS

** , Données relevées de l'Atlas Climatique du Liban (Plassard, 1981)

TABLEAU 2
Caractères Agronomiques de 16 Clones de Cerisier (*P. avium* et *P. cerasus*) Cultivés au Liban

Clones	Espèces	Forme et contour de la feuille	Forme du fruit	Couleur de l'épiderme	Date de floraison	Date de maturité	Volume du noyau
Abiad	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Arrondie	Blanc	Intermédiaire	hâtive	Moyen à gros
Aswad murr	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Cordiforme	Rouge noir	Tardive	Tardive	Moyen
Aswad ukrani	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Arrondie	Rouge noir	Intermédiaire	Hâtive	Moyen
Banni kasir	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rouge foncé	Tardive	Intermédiaire	Gros à moyen
Banni tawil	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rouge foncé	Tardive	Intermédiaire	Moyen à gros
Ferawni tawil	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rouge	Intermédiaire	Intermédiaire	Moyen à gros
Itali	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rouge	Intermédiaire	Intermédiaire	Moyen à gros
Kalbeltair	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Cordiforme	Rouge clair à jaune	Intermédiaire	Tardive	Moyen à gros
Karaz hamoud	<i>P. cerasus</i>	Oviforme crênelée	Arrondie	Rouge clair	Intermédiaire	Intermédiaire	Petit à moyen
Kaws kozah	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Cordiforme	Rouge clair avec trait rouge	Intermédiaire	Tardive	Moyen
Moukahal ukrani	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Arrondie	Rouge	Intermédiaire	Hâtive	Moyen
Nouwari	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Arrondie	Rouge	Hâtive	Hâtive	Moyen
Nouwari-ferawni	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rouge	Hâtive	Intermédiaire	Moyen à gros
Soukari	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rouge	Intermédiaire	Tardive	Moyen à gros
Yabani	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rouge foncé	Hâtive	Intermédiaire	Moyen
Zahri	<i>P. avium</i>	Lancéolée-crênelée	Réniforme	Rose	Hâtive	Intermédiaire	Moyen

TABLEAU 3
Caractérisation Morphométrique de la Feuille et du Fruit de 16 Clones de Cerisier
Cultivés au Liban (moyennes \pm écart-types calculés à partir de 45 mesures par clone)

Variété	Longueur de la feuille (cm)	Largeur de la feuille (cm)	Longueur du pétiole (cm)	Poids du fruit (g)	Diamètre du fruit (cm)	Longueur du pédoncule (cm)
Abiad	15,1 \pm 1,8	6,1 \pm 0,9	2,7 \pm 0,4	6,4 \pm 0,8	2,4 \pm 0,01	3,6 \pm 0,6
Aswad murr	13,4 \pm 1,2	7,8 \pm 0,7	3,3 \pm 0,4	3,8 \pm 0,4	1,9 \pm 0,08	3,9 \pm 0,5
Aswad ukrani	12,1 \pm 1,2	5,0 \pm 0,6	2,4 \pm 0,4	8,1 \pm 0,7	2,4 \pm 0,01	3,6 \pm 0,4
Banni kasir	12,4 \pm 1,0	5,9 \pm 0,5	3,2 \pm 0,5	9,8 \pm 1,0	2,8 \pm 0,10	2,5 \pm 0,4
Banni tawil	13,6 \pm 1,0	6,9 \pm 0,7	2,8 \pm 1,1	4,0 \pm 1,4	2,0 \pm 0,20	3,3 \pm 0,1
Ferawni tawil	12,6 \pm 0,1	6,8 \pm 0,1	3,8 \pm 0,3	7,2 \pm 0,9	2,5 \pm 0,02	3,4 \pm 0,1
Itali	12,5 \pm 1,4	6,3 \pm 0,7	3,4 \pm 0,8	7,4 \pm 0,8	2,5 \pm 0,14	3,1 \pm 0,3
Kalbeltair	12,6 \pm 0,8	6,6 \pm 0,6	3,1 \pm 0,5	6,2 \pm 0,2	2,3 \pm 0,12	3,5 \pm 0,3
Karaz hamoud	06,2 \pm 0,7	3,5 \pm 0,4	1,5 \pm 0,4	3,1 \pm 0,4	1,8 \pm 0,08	2,2 \pm 0,4
Kaws kozah	13,8 \pm 0,4	7,2 \pm 1,0	3,4 \pm 0,4	5,2 \pm 0,1	2,1 \pm 0,05	4,0 \pm 0,6
Moukahal ukrani	13,2 \pm 1,4	5,8 \pm 0,8	2,4 \pm 0,5	7,0 \pm 0,9	2,4 \pm 0,01	3,4 \pm 0,6
Nouwari	14,5 \pm 1,2	7,2 \pm 1,2	2,8 \pm 0,1	3,4 \pm 0,4	1,8 \pm 0,02	7,2 \pm 1,2
Nouwari-ferawni	14,4 \pm 2,1	8,2 \pm 0,7	3,6 \pm 0,7	7,9 \pm 0,9	2,5 \pm 0,14	3,5 \pm 0,7
Soukari	13,0 \pm 2,4	6,6 \pm 1,1	3,3 \pm 1,0	3,9 \pm 1,2	1,9 \pm 0,17	3,4 \pm 0,2
Yabani	09,7 \pm 1,0	4,7 \pm 0,3	3,1 \pm 0,1	2,7 \pm 0,7	1,7 \pm 0,12	2,6 \pm 0,4
Zahri	12,2 \pm 1,3	5,8 \pm 0,4	2,3 \pm 0,4	4,8 \pm 0,3	1,9 \pm 0,03	3,7 \pm 0,4

Comme tous les caractères morphologiques utilisés dans cette étude permettent de différencier les 16 clones étudiés, on pourra se satisfaire du poids du fruit et des caractères morphométriques de la feuille, du pétiole et du pédoncule pour étudier la diversité des clones de cerisier.

Caractérisation moléculaire

L'ADN extrait a été analysé pour 8 clones seulement, les autres ayant présenté une qualité insuffisante (ADN dégradé et extraction non refaite). Les 4 couples d'amorces utilisés sont tous polymorphes et permettent de révéler 81 bandes, dont 17 sont polymorphes avec une taille comprise entre 92 et 390 pb (Tableau 6). Ils engendrent différents niveaux de polymorphisme allant de 17,39% pour le couple *EcoRI*+*AAC/MseI*+*CG* à 40% pour le couple *EcoRI*+*AGA/MseI*+*CA*. Le pouvoir discriminant est compris entre 0,4 pour le couple *EcoRI*+*AGA/MseI*+*CA* et 0,87 pour le couple *EcoRI*+*AGG/MseI*+*CG* qui donne, à lui tout seul, 8 bandes polymorphes. Ces données indiquent que le pouvoir discriminant n'est pas toujours lié au pourcentage de polymorphisme

TABLEAU 4

Validation des Caractères Etudiés (9 Caractères Quantitatifs) selon les Trois Premières Composantes Principales chez 16 Clones de Cerisier Cultivés au Liban

Caractères	Composantes		
	1	2	3
Longueur de la feuille	0,76	-0,48	0,25
Largeur de la feuille	0,73	-0,60	-0,12
Longueur du pétiole	0,77	-0,27	-0,33
Poids du fruit	0,70	0,57	0,34
Diamètre du fruit	0,74	0,54	0,30
Longueur du pédoncule	0,09	-0,81	0,43
Date de floraison	0,29	0,39	-0,45
Date de maturité	0,12	-0,16	-0,92
Volume du noyau	0,84	0,22	-0,11
Pourcentage de variation totale	0,39	0,24	0,18

TABLEAU 5

Coefficients de Corrélation Obtenus entre 6 Caractères Quantitatifs chez 16 Clones de Cerisier (les valeurs entre parenthèses indiquent la probabilité P, le coefficient est significatif lorsque $P < 0,05$)

	Longueur de la feuille	Largeur de la feuille	Longueur du pétiole	Poids du fruit	Diamètre du fruit	Longueur du pédoncule
Longueur de la feuille	1	0,82 (0,0003)	0,52 (0,0367)	0,30 (0,2515)	0,34 (0,1914)	0,55 (0,0270)
Largeur de la feuille		1	0,72 (0,0016)	0,14 (0,5963)	0,20 (0,4522)	0,48 (0,0558)
Longueur du pétiole			1	0,28 (0,2930)	0,34 (0,1952)	0,09 (0,7178)
Poids du fruit				1	0,98 (0,0005)	-0,24 (0,3662)
Diamètre du fruit					1	-0,23 (0,3910)
Longueur du pédoncule						1

TABLEAU 6
Séquences Nucléotidiques des Couples d'Amorces Utilisées pour l'Analyse Génétique des Cerisiers

Nom des amorces	Séquences des amorces (5'-3')	Nombre total de bandes	Nombre de paires de base	Nombre (%) bandes poly-morphes	Pouvoir discriminant
EcoRI+AGA/MseI+CA	5'-GACTGCGTACCAATTCAGA-3' 5'-GATGAGTCCTGAGTAACA-3'	5	130-290	2 (40,0)	0,40
EcoRI+AGG/MseI+CG	5'-GACTGCGTACCAATTCAGG-3' 5'-GATGAGTCCTGAGTAACG-3'	33	116-390	8 (24,2)	0,87
EcoRI+AGG/MseI+CA	5'-GACTGCGTACCAATTCAGG-3' 5'-GATGAGTCCTGAGTAACA-3'	16	123-350	3 (18,8)	0,65
EcoRI+AAC/MseI+CG	5'-GACTGCGTACCAATTC AAC-3' 5'-GATGAGTCCTGAGTAACG-3'	23	92-368	4 (17,4)	0,75

car il résulte d'un équilibre entre le nombre de profils qu'il génère et leur fréquence (Tessier *et al.*, 1999). Ainsi, les 4 couples d'amorces précédemment utilisés pour caractériser des cerisiers cultivés en France (Tavaud *et al.*, 2000) permettent d'assurer une discrimination complète de 8 clones de cerisier étudiés au Liban, et ce avec un pouvoir discriminant proche de celui noté chez le cerisier français (Bouty, 1999).

Le dendrogramme construit sur la base des données AFLP permet de distinguer 5 groupes à une distance de Jaccard de 0,1 (Figure 2). Les 2 clones Itali et Kaws kozah, à floraison intermédiaire sont classés séparément des autres, présentant 9 allèles en commun pour les 4 couples d'amorces. Le deuxième groupe est constitué de Soukari et Ferawni tawil, caractérisés par une floraison intermédiaire et un noyau de volume moyen à gros (Tableau 2); ils ont 11 allèles en commun. Le troisième groupe rassemble Nouwari et Yabani à floraison hâtive et à noyau de volume moyen et présentant 10 allèles en commun. Les 2 autres groupes sont constitués chacun d'un seul clone.

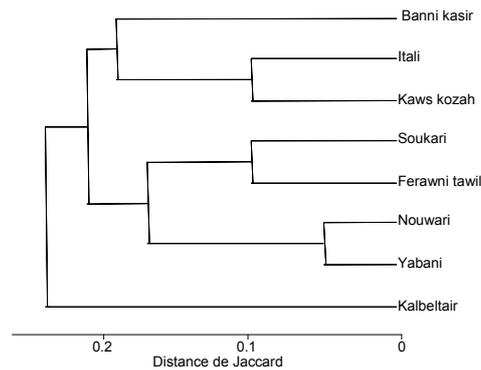


Figure 2. Dendrogramme de 8 clones de cerisier réalisé sur 4 couples d'amorces à partir de la distance de Jaccard (Méthode UPGMA).

CONCLUSIONS

Ce travail représente la première caractérisation de 16 clones de cerisier cultivés au Liban. Une diversité relativement importante est ainsi révélée, aussi bien pour les dates physiologiques de floraison et de maturité que pour les caractères morphologiques du fruit. La présence de cerisier du type guignier, dont les fruits sont à chair tendre ainsi que d'hybrides entre *P. cerasus* et *P. avium* dont les fruits sont appelés cerises anglaises ou royales n'a pas été révélée au cours de cette étude. Une diversification pourra être envisagée pour élargir la gamme variétale cultivée au Liban afin de favoriser l'industrie de la transformation.

Les données AFLP obtenues au cours de cette étude à l'aide de 4 couples d'amorces préalablement développées chez les cerisiers cultivés en France (Tavaud *et al.*, 2000), ont permis de différencier en terme génétique les 8 clones analysés parmi les 16 repertoriés et de les rassembler en 5 groupes. Il est important de souligner que les marqueurs AFLP sont de type dominant et ne donnent accès qu'à une partie de l'information (Santoni *et al.*, 2000, Dirlewanger *et al.*, 2002). Il serait important d'étendre cette étude à l'ensemble des clones de cerisier recensés au Liban et de la compléter par analyse de l'ADN avec des marqueurs moléculaires codominants comme les microsatellites qui devront permettre d'évaluer la diversité génétique en mesurant le niveau d'hétérozygotie et de calculer le nombre moyen d'allèles par locus (Santoni *et al.*, 2000; Testolin *et al.*, 2000). Ainsi, les clones de cerisier cultivés au Liban pourraient être identifiés d'une façon certaine, par comparaison avec le matériel européen, aussi bien au niveau des critères pomologiques qu'au niveau des marqueurs microsatellites. Cette identification devra offrir de nouveaux horizons pour la commercialisation des cerises libanaises sur le marché international.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par le programme franco-libanais CEDRE n°99 EB F59/L59. Nous remercions également le projet PNUD n°13374 Agrobiodiversité et Dr R. Rays pour leur participation à l'identification des clones.

REFERENCES

- Alonso-Blanco, C., Peeters, A.J.M., Koorneef, M., Lister, C., Van den Bosch, N., Pot, J., Kuiper, M.T.R. 1998. Development of an AFLP based linkage map of Ler, Col and Cvi *Arabidopsis thaliana* ecotypes and construction of a Ler/Cvi recombinant inbred line population. *Plant J.*, 14 (2) : 259-271.
- Bouty, E. 1999. *Caractérisation moléculaire et analyse de diversité génétique de variétés de cerisier Français*. Maîtrise de Sciences et Techniques de Biologie appliquée aux Productions Végétales et Industries Alimentaires. Université Picardie Jules Vernes, Amiens, 62 pp.
- Dagnelie, P. 1986. *Analyse statistique à plusieurs variables*. Les Presses Agronomiques de Gembloux, Gembloux, 362 pp.
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M.J., Poizat, C., Zanetto, A., Arus, P., Laigret, F. 2002. Development of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 105:127-138.

- Dosba, F., Bernard, R., Zanetto, A. 1994. Importance des ressources génétiques des *Prunus*. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, 80 (5): 45-57.
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 44 : 223-270.
- Lin, J.J., Kuo, F., Ma, J., Saunders, J.A., Beard, H.S., MacDonald, M.H., Kenworthy, W., Ude, G.N., Mathews, B.F. 1996. Identification of molecular markers in soybean comparing RFLP, RAPD and AFLP DNA mapping techniques. *Plant Mol. Biol. Repr.*, 14 (2): 156-169.
- Mackil, D.J., Zhang, Z., Redona, ED., Colowit, P.M. 1996. Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in Rice. *Genome*, 39: 969-977.
- Manubens, A., Lobos, S., Jadue, Y., Toro, M., Messina, R. Lladser, M., Seelenfrund, D. 1999. DNA isolation and AFLP fingerprinting of nectarine and peach varieties (*Prunus persica*). *Plant Molecular Biology Reporter*, 17: 255-267.
- Plassard, J. 1981. *Atlas climatique du Liban*. Ministère des travaux publics et des transports, service météorologique du Liban, Beyrouth. Observatoire de Ksara, Tome1, 45 pp.
- Rohlf, F.J. 1997. *NTSY-PC: numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Exeter software, New York.
- Santoni, S., Faivre-Rampant, P., Prado E., Prat, D. 2000. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers Agricultures*, 9 : 311-327.
- Saporta, G. 1990. *Probabilités analyse des données et statistique*. Editions Technip, Paris, 493 pp.
- Schmidt, H., Viltrup-Christensen, Y., Watkins, R., Smith, R.A. 1985. *Cherry descriptors*. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, 33 pp.
- Shanghai-Marooof, M.A., Soliman, K.M., Jorgensen, R.A, Allard, R.W. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance chromosomal location and population genetics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 8014-8018.
- Tavaud, M., Bouty, E., Zanetto, A., Dirlwanger, E. 2000. Molecular characterization and diversity evaluation in French cherry varieties. *Plant and Animal Genome*, VII : 17-21.
- Tessier, C., David, J., This, P., Boursiquot, J.M., Charrier A. 1999. Optimization of the choice of molecular markers of varietal identification in *Vitis vinifera* L. *Theor. Appl. Genet.*, 98: 171-177.
- Testolin, R., Marrazo, T., Cipriani, G., Quarta, R., Verde, I., Dttori, M.T., Pancaldi, M., Sansavini, S. 2000. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *Genome*, 43: 512-520.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. 1995. AFLP : a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 23 : 4407-4414.