# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

**En Écologie, Evolution, Ressources Génétique, Paléobiologie (EERGP)**

**École doctorale GAIA**

**Unité de recherche : Unité Mixte de Recherche DIADE**

**En co-tutelle avec l'université d'Abomey-Calavi, Bénin (UAC)**

## Titre de la thèse :

# Diversité génétique et histoire évolutive de deux espèces de palmier utiles (*Borassus aethiopum* Mart. et *Raphia vinifera* P.Beauv.) en Afrique de l'Ouest et Centrale: implications des changements climatiques et impacts de l'homme


**Présentée par Mariano Joly KPATENON**
**Le 28 avril 2022**

**Sous la direction de Thomas L. P. COUVREUR et Zouri-Kifouli A. ADEOTI**


**Devant le jury composé de**

| | |
|---|---|
| Myriam HEUERTZ, Directrice de recherche, INRAE Université de Bordeaux, France. | Rapportrice |
| Gustave L. DJEDATIN, Maitre de conférence CAMES, Université d'Abomey, Bénin | Rapporteur |
| Jérôme DUMINIL, Directeur de recherche, IRD Montpellier, France | Président |
| Hubert ADOUKONOU AWO SAGBADJA, Professeur Titulaire CAMES, Université d'Abomey-Calavi, Bénin | Examinateur |
| Estelle JALIGOT, Cadre scientifique CIRAD Montpellier, France | Co-encadrante de thèse |
| Thomas L. P. COUVREUR, Directeur de recherche, IRD Montpellier, France | Directeur de thèse |
| Zouri-Kifouli A. ADEOTI, Maitre de Conférence CAMES, Université d'Abomey-Calavi, Bénin | Co-directeur de thèse |

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

**Remerciements**

L'ensemble de ces travaux de thèse que je présente ici a été réalisé dans les deux structures ci-après :

L'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) de Montpellier, précisément dans l'Unité Mixte de Recherche DIADE et au sein de l'équipe DYNADIV.

Et le laboratoire de Microbiologie et des Technologies Alimentaires (LAMITA) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC), Bénin.

Je tiens à remercier l'ensemble des responsables de ces unités pour m'avoir accueilli dans leur équipe. Je veux nommer Alain GHESQUIERE, Yve VIGOUROUX et Farid BABA-MOUSSA.

Ces travaux ont été possibles grâce à plusieurs sources de financement :

- Le financement du projet GenPhyB du Programme Sud Expert Plante et Développement Durable (SEP2D) dans lequel s'inscrit ma thèse.
- La bourse du service de coopération et d'action culturelle (SCAC) de l'ambassade de France au Bénin, gérée par campus France.
- Le financement du projet MooSciTIC de la fondation AgroPolis international, Montpellier, France.
- L'aide au doctorat du programme ''action incitative'' du CIRAD, Montpellier.

Merci à tous ces programmes pour avoir accompagné mon projet de thèse qui s'achève.

Je tiens à remercier spécialement les trois personnes sans qui ce projet de thèse n'aurait pas été possible. Il s'agit ici de mes encadrants Dr. ADEOTI Kifouli, Maître de Conférence des Universités CAMES et Enseignant-Chercheur à l'Université d'Abomey-Calavi, Bénin ; Dr. Thomas L. P. COUVREUR, Chercheur HDR sénior à l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Montpellier, France ; Estelle JALIGOT, Cadre scientifique au centre international de recherche agronomique pour le développement (CIRAD), Montpellier, France. Mes sincères remerciements pour la patience, la disponibilité dont vous avez fait preuve au cours de ces trois années de dur labeur. Merci de m'avoir aiguillé, encadré et conseillé durant ce long processus.

Je ne peux m'empêcher de vous remercier séparément :

Dr. Thomas, merci pour l'accueil dans ton équipe de recherche, la disponibilité, la patience à toute épreuve dont tu as fait preuve durant toutes ces années. Pendant, ces nombreuses années nous avons connu des hauts et des bas mais tu n'as pas cessé de m'accompagner et d'être présent. Un sincère merci pour cet excellent cadre de travail que tu m'as fourni et l'opportunité que tu m'as ainsi offert de faire ma thèse dans de bonnes conditions de travail. Je suis très heureux de t'avoir eu comme directeur de thèse, d'avoir évolué à côté de quelqu'un d'aussi efficace au travail que toi et d'avoir fait également mes débuts dans la biologie de l'évolution à tes côtés. Pour tout ceci je te dis un sincère merci car sans toi rien n'aurait été possible.

Dr. Kifouli, je manque de mot pour exprimer ma gratitude envers vous. Seul Dieu pourra vous rendre tout ce que vous avez fait pour moi durant toutes ces années. Je me souviens encore de ces nuits sans sommeil quand le navire traversait des tempêtes. Merci à vous pour les nombreux conseils sans cesse renouvelés. Plus qu'un encadrant, vous êtes un aîné, un guide scientifique dont le soutien a été indéfectible quoi qu'il arrive depuis mon Master. Je vous remercie d'avoir

cru en moi et d'avoir placé cette confiance en moi. Je garderai en mémoire votre efficacité au travail, votre esprit d'équipe et votre positivité. Ce travail que je présente ici est l'aboutissement de vos conseils et vos orientations.

Dr. Estelle, merci d'avoir été présente pour moi depuis le Master jusqu'à aujourd'hui. Merci tout d'abord pour m'avoir accepté sur le projet MooSciTic qui a financé aussi une partie de ma thèse. Merci pour la veille et l'assistance au cours de ces nombreuses formalités durant la thèse, l'obtention du financement spécial du CIRAD nommé « action incitative » deux années consécutives et également pour ton apport sans cesse renouvelé pendant toute la thèse. Je te dis un sincère merci pour l'accompagnement, la patience et les nombreux conseils durant toutes ces années. Merci pour tout.

Thierry BEULE, que lui dire ? Juste quelques mots pour exprimer ma gratitude. Merci d'avoir été présent pour moi durant toutes ces années depuis mon Master. Merci pour ton soutien inconditionnel. Je te remercie d'avoir été pour moi un père, un aîné, un ami, un encadrant et une personne sur qui j'ai toujours pu compter même dans les situations les plus difficiles. Je garde en mémoire tous ces moments de joie, de crainte et de stress vécus avec ton soutien. Puisse Dieu te rendre au centuple tout ce que tu as fait pour moi. Merci Thierry.

Dr Andrew HELMSTETTER, un sincère merci à toi pour l'initiation à la bio-informatique et l'accompagnement pendant ces années. J'ai eu un grand plaisir à faire mes premiers pas vers les analyses bio-informatiques avec toi. Merci d'avoir répondu présent dans les moments où j'avais besoin de toi malgré tes occupations. J'espère le début d'une longue amitié et d'une belle collaboration.

Je dis un sincère merci aux membres de mon comité de suivi de thèse de l'université de Montpellier d'une part, je veux nommer : Valérie PONCET, Guillaume BESNARD et Gaël KERGOAT. Et les membres du côté de l'Université d'Abomey-Calavi, Bénin, je veux nommer : YEDOMONHAN Hounnankpon, Professeur titulaire des Université CAMES, ADOMOU Aristide, professeur titulaire des Université CAMES et ADOUKONOU A. SAGBADJA Hubert, professeur titulaire des Université CAMES.

Je n'oublie pas tous les chercheurs de l'équipe DYNADIV, qui ont d'une manière ou d'une autre aidé à la finalisation de ces travaux. En particulier Valérie PONCET, Christine TRANCHANT, Philippe CUBRY, Cédric MARIAC.

Mes sincères remerciements vont également à l'endroit de tous les membres de l'équipe F2F de l'UMR-DIADE qui m'ont vu faire mes débuts à l'IRD, en particulier Myriam COLLIN, Frederique ABERLENC.

J'adresse également un sincère merci à tous les doctorants de l'équipe DYNADIV qui ont participé à rendre mes séjours agréables dans l'équipe. En particulier, Eldys AMOUSSOU, Katina OLODO, Boniface YOGOM, Aby CISSE, Franca MEGUEM, Jakty KUSUMA, Sebastian ESCOBAR., et bien d'autres.

Je ne saurais oublier d'adresser mes vifs remerciements aux docteurs et différents membres du laboratoire LAMITA, en particulier Dr Pacôme NOUMAVO, Dr Brice OHIN, Dr Nicéphore GLODJINON, Dr Noel TOVIDE, Mr Marcelin FANNOU et bien d'autres.

Mes remerciements s'adressent également à mes amis de longue date qui ont toujours répondu présent à mes côtés, en particulier Charlotte SILVESTRE, Georges HOMEKY, Girault

GNANGUENON, Gildas HOUNKANRIN, Marie Marthe CHABI, Ulysse DAA-KPODE, Gloria FADIPE, Linda MANET et bien d'autres encore.

Bien évidemment j'adresse un sincère merci à toute ma famille et en particulier mon père KPATENON A. Thomas un homme formidable à qui je dois tout, ma mère une femme à toute épreuve, mon frère Gildas KPATENON et ma sœur Carine KPATENON, ma compagne Bernice HOUNTONDJI, et mes petites princesses Irwin, Malia, et Kate KPATENON. Je vous adresse tous ensemble un sincère merci d'être toujours là pour moi.

J'exprime également mes sincères remerciements à toute la famille CHAFIOL et en particulier Bérengère CHAFIOL pour son soutien et sa compréhension.

J'adresse pour finir un sincère merci au membre de mon jury pour avoir accepté de vous rendre disponible et d'évaluer ce travail malgré les conditions difficiles dues à la crise sanitaire actuelle et à l'organisation de ce jury.

**Liste des publications et communications**

Article publié :

**Mariano Joly Kpatènon**, Valère Kolawolé Salako, Sylvain Santoni, Leila Zekraoui, Muriel Latreille, Christine Tollon-Cordet, Cédric Mariac, Estelle Jaligot, Thierry Beulé, Kifouli Adéoti. Transferability, development of simple sequence repeat (SSR) markers and application to the analysis of genetic diversity and population structure of the African fan palm (*Borassus aethiopum* Mart.) in Benin. BMC Genetics; https://doi.org/10.1186/s12863-020-00955-y.

Articles en préparation (Soumission prévue pour l'été 2022) :

**Mariano Joly Kpatènon**, Andrew Helmstetter, Adama Faye, Estelle Jaligot, Kifouli Adéoti, Thomas L. P. Couvreur. Implication des Changements Climatiques passés sur l'histoire évolutive du palmier rônier (*Borassus aethiopum*, Mart.) en Afrique de l'Ouest et du Centre et reconstruction de la phylogénie du genre *Borassus.*

**Mariano Joly Kpatènon**, Andrew Helmstetter, Estelle Jaligot, Kifouli Adéoti, Thomas L. P. Couvreur. Évaluation du niveau de structuration génétique des populations du palmier *Raphia vinifera* P. Beauv, rencontré dans l'Ouest du Cameroun : Impacts anthropiques.

Communications orales :

**Kpatènon M J**., Salako V. K., Santoni S., Jaligot E., Beulé T., Adéoti K., Couvreur T. L. P. Diversity and population structure of African fan palm (*Borassus aethiopum* MART.) in Benin (West Africa). **VII World Palm Symposium.** Online, Brésil, 16-18 juin 2021.

Communicateur : Mariano KPATENON

**Kpatènon M J**., Jaligot E., Adéoti K & Couvreur T.L.P. (2019). Evolutionary history of the savanna palm species *Borassus aethiopum* (Coryphoideae) in West Africa. Meeting of the European Network of Palm Scientists (EUNOPS). Université de Paris Sud-Orsay, France, 18-19 mai 2019.

Communicateur : Mariano KPATENON

Adéoti K., **Kpatènon M**., Salako V., Ouédraogo A., Santoni S., Couvreur T., Beulé T. & Jaligot E. (2018). The African fan palm (*Borassus aethiopum* Mart.): preservation challenges and genetic diversity in Benin, West Africa. Meeting of the European Network of Palm Scientists (EUNOPS). Botanical Gardens, Göteborg, Suède, 12-13 mai 2018.

Communicateur: Kifouli ADEOTI

Wollo Herrol., **Kpatènon M**., Collin M., Verdeil J. L., Lartaud M., Salako V., Adéoti K et Beulé T. (2019). Seed structure and germination in *Borassus aethiopum* Mart. Meeting of the European Network of Palm Scientists (EUNOPS). Université de Paris Sud-Orsay, France, 18-19 mai.

Communicateur: Thierry BEULE

**Table des matières**

INTRODUCTION ..... 1

CHAPITRE I : Transferability of simple sequence repeat (SSR) markers and application to the analysis of genetic diversity and population structure of the African fan palm (*Borassus aethiopum* Mart.) in Benin ..... 36

CHAPITRE 2 : Reconstruction de l'histoire évolutive du genre *Borassus* : Relation phylogénétique et biogéographie à la lumière des changements climatiques passés ..... 65

CHAPITRE 3 : Implication des changements climatique passés sur l'histoire évolutive du palmier rônier (*Borassus aethiopum* Mart.) en Afrique de l'Ouest et du Centre ..... 97

CHAPITRE 4 : Evaluation du niveau de structuration génétique des populations du palmier *Raphia vinifera* P. Beauv., rencontré dans l'Ouest du Cameroun : Impacts anthropique ..... 135

DISCUSSION GENERALE ..... 160

CONCLUSION ET PERSPECTIVES ..... 169

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE ..... 174

ANNEXE ..... 187

**Acronymes et abréviations**

% : Pourcentage

ADN : Acide désoxyribonucléique

ESS : Effective sample size (taille d'échantillons effective)

LVC : Ligne volcanique du Cameroun

DG : Couloir sec dahoméen (Dahomey Gap)

Ka : Milliers d'années

m : Mètre

Ma : Millions d'années

MCMC : Monte-Carlo par chaînes de Markov

mm : Millimètre

NGS : Séquençage de nouvelle génération (Next generation sequencing)

PCR : Réaction en chaîne par polymérase (Polymerase chain reaction)

PFNL: Produit forestier non-ligneux

PP : Probabilité postérieure (Posterior probability)

SNP : Single Nucleotide polymorphism

SSR : Marqueurs microsatellite

Vcf : Variant call format

**Liste des tableaux**

Tableau 1 : Liste et aires de répartition des cinq espèces du genre *Borassus*. ..... 15

**Liste des figures**

Figure 1 : Distribution mondiale des savanes, des forêts sèches et tropicales. ..... 4

Figure 2 : Principaux milieux écologiques d'Afrique de l'Ouest. ..... 4

Figure 3 : La zone d'Afrique de l'Ouest montrant le Dahomey Gap et la végétation rencontrée dans cette zone. ..... 9

Figure 4 : Les cinq espèces du genre *Borassus*. ..... 16

Figure 5 : Répartition des palmiers *Borassus* dans le monde. ..... 16

Figure 6 : Individus de *B. aethiopum* dans un champs de maïs à Matérie, Bénin. ..... 19

Figure 7 : Quelques usages de *B. aethiopum* . ..... 22

Figure 8 : *Raphia vinifera* dans un champs d'herbe au Cameroun. ..... 24

Figure 9 : Distribution de *Raphia vinifera* en Afrique de l'Ouest et du Centre. ..... 26

Figure 10 : Illustration présentant les marqueurs microsatellites et leur utilisation pour détecter du polymorphisme. ..... 29

**Résumé**

Les savanes, étendues de forêts sèches et d'herbes, regorgent des espèces végétales à grand intérêt économique, alimentaire, etc. Cependant, l'origine et l'évolution des espèces végétales au sein de l'écosystème des savanes restent peu étudiées, notamment en Afrique de l'Ouest, ce qui freine le développement de stratégies de protection et de conservation. Au cours de ma thèse je me suis intéressé à deux espèces de palmiers importantes pour les populations locales sahéliennes, le palmier rônier (*Borassus aethiopum* Mart.) et le palmier bambou (*Raphia vinifera* P. Beauv).

Dans un premier temps j'ai exploré la diversité génétique et l'évolution du palmier rônier (*Borassus aethiopum* Mart.) pour comprendre l'impact des changements climatiques passés sur sa distribution. L'exploration de la diversité génétique de *B. aethiopum* a nécessité la collecte de 180 échantillons dans 9 localités au Bénin. Une collection inter et intraspécifique composée respectivement de 29 espèces de *Borassus* et genres apparentés et 69 individus de *B. aethiopum* a été constituée pour la reconstruction phylogénétique du genre *Borassus* et la phylogéographie de *B. aethiopum*. Une approche de capture de gène a été utilisée pour les analyses de phylogénie moléculaire. La reconstruction phylogénétique datée du genre *Borassus* a été réalisée par la méthode de maximum de vraisemblance (RAxML), la datation moléculaire étant réalisée avec des fossiles de palmier et sur la base d'une horloge moléculaire stricte. La méthode de coalescence a été utilisée pour construire l'histoire évolutive des groupes génétiques de *B. aethiopum*.

Nous avons défini 11 loci microsatellites à partir d'un séquençage partiel du génome de *B. aethiopum*. L'analyse des données a montré une faible diversité génétique au Bénin. Nous avons obtenu également une faible structuration génétique avec une variance moléculaire plus importante en intrasite (53 %). La reconstruction phylogénétique datée a révélé une origine asiatique pour le genre *Borassus* il y a 24,4 Ma, et une divergence tardive au sein du genre il y a environ 16 millions d'années. La spéciation *de B. aethiopum* date de 3,05 Ma et son espèce sœur se révèle être *B. madagascariensis*. Nos résultats apportent également la preuve génétique de la présence de *B. akeassii* au Sénégal. A partir de l'analyse des données SNPs, nous avons détecté trois groupes génétiques chez *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et au Centre. L'histoire évolutive des groupes génétiques de *B. aethiopum* construite suggère une expansion longitudinale orientée Nord-Sud au cours du Pléistocène (2,58 Ma – 11,7 ka) en Afrique de l'Ouest suivant le couloir sec dahoméen et en parallèle à une expansion de l'Afrique de l'Ouest vers le Centre (Cameroun) il y a 0,92 Ma. Cette période d'expansion (1,38 – 0,92 Ma) des

groupes génétiques de *B. aethiopum* a été identifiée comme une période chaude du climat qui a favorisé l'expansion des savanes et l'installation du couloir sec dahoméen.

Dans un second volet de ma thèse, j'ai cherché à vérifier l'impact anthropique sur la structuration génétique des peuplements naturels de *Raphia vinifera* dans l'Ouest du Cameroun. A partir d'une collection de 28 individus, nous avons analysé la structuration génétique chez *R. vinifera* en utilisant une approche d'appel de SNPs. Nos résultats révèlent un seul groupe génétique pour l'ensemble des populations de *R. vinifera* collectées dans l'Ouest du Cameroun. Ces résultats traduisent une absence de structuration génétique, et la totalité de nos accessions se retrouve dans un même groupe génétique suggérant un important transfert de matériel génétique entre ces différentes populations. Nos résultats postulent pour un paysage façonné par l'activité humaine au fil du temps, notamment la culture du *R. vinifera* depuis plusieurs générations à l'Ouest du Cameroun.

**Abstract**

Savannas, areas of dry forest and grasses, are rich in plant species of great economic interest, food. However, the origin and evolution of plant species within the savanna ecosystem remain poorly studied, especially in the Sahel, which hinders the development of protection and conservation strategies. During my thesis, I focused on two palm species that are important to local Sahelian populations, the Palmyra palm (*Borassus aethiopum* Mart.) and the bamboo palm (*Raphia vinifera* P. Beauv).

First, I explored the genetic diversity and evolution of roast palms to understand the impact of past climate change on their distribution. The exploration of the genetic diversity of *B. aethiopum* required the collection of 180 in 9 localities in Benin. An inter and intraspecific collection composed of 29 *Borassus* species, related genera, and 69 *B. aethiopum* individuals, respectively, was constituted for the phylogenetic reconstruction of the genus *Borassus* and the phylogeography of *B. aethiopum*. A gene-capture approach was used for the molecular phylogenetic analyses. The dated phylogenetic reconstruction of the genus *Borassus* was performed by the Maximum Likelihood Method (RAxML), with molecular dating performed with palm fossils and based on a strict molecular clock. The coalescent method was used to construct the evolutionary history of the genetic groups of *B. aethiopum*.

We defined 11 microsatellite loci from partial sequencing of the *B. aethiopum* genome. Data analysis showed low genetic diversity in Benin. We also obtained a low genetic structuring with a higher intra-site molecular variance (53%). The dated phylogenetic reconstruction revealed an Asian origin for the *Borassus* genus 24.4 million years ago and a late divergence within the genus about 16 million years ago. Speciation of *B. aethiopum* dates to 3.05 million years and its sister species is found to be *B. madagascariensis*. Our results also provide genetic evidence for the presence of *B. akeassii* in Senegal. From the analysis of SNPs data, we detected three genetic groups in *B. aethiopum* in West and Central Africa. The evolutionary history of the constructed *B. aethiopum* genetic groups suggests an expansion during the Pleistocene oriented North-South in West Africa along the Dahomean dry corridor and in parallel with an expansion from West Africa to the Center (Cameroon) 0.92 million years ago. This period of expansion (1.38 – 0.92 million years) of the *B. aethiopum* genetic groups has been identified as a warm period of climate that favored the expansion of the savannas and the installation of the dahomean dry corridor.

In the second part of my thesis, I sought to verify the anthropogenic impact on the genetic structuring of natural stands of *R. vinifera* concerning the strong anthropogenic influence that the species undergoes in western Cameroon. From a collection of 28 individuals, we analyzed the genetic structuring in *R. vinifera* using an SNP calling approach. Our results reveal a single genetic group for all *R. vinifera* populations collected in western Cameroon. These results indicate a lack of genetic structuring, and all of our accessions are found in the same genetic group, suggesting significant transfer of genetic material between these different populations. Our results postulate a landscape shaped by human activity over time, notably the cultivation of *R. vinifera* for several generations in western Cameroon.

# INTRODUCTION

**Préambule**

En biologie évolutive, la compréhension de l'origine et la distribution de la biodiversité sont des questions fondamentales pour la conservation et la protection des espèces végétales (Swenson 2011; Brown 2014). La phylogénie et la phylogéographie sont deux outils très efficaces utilisés pour comprendre l'état actuel de la distribution de la biodiversité, son origine et les mécanismes qui l'ont façonné (Couvreur et al. 2021 ; Boom et al. 2021). Chez les espèces de forêt par exemple on peut donc recenser plusieurs études phylogénétiques et phylogéographiques qui ont permis de comprendre l'évolution des forêts et des espèces qui s'y trouvent (Heuertz et al. 2014; Helmstetter et al. 2019; Demenou, Piñeiro, et Hardy 2016; Duminil et al. 2015; Couvreur et al. 2019; Escobar et al. 2019; Brée et al. 2020; Dagallier et al. 2020). Par contraste, on dénombre peu d'études sur l'évolution des savanes et la distribution des espèces de ces savanes ainsi que les mécanismes qui ont façonné leur distribution actuelle (Allal et al. 2011; Logossa et al. 2011; Sexton et al. 2015; Lompo et al. 2018; Donkpegan et al. 2019; Ahossou et al. 2020). Cependant, une grande partie de la biodiversité se retrouve en zone de savane malgré l'importance de l'exploitation des espèces de savane par les populations. La lacune dans les connaissances sur la distribution des espèces de savanes demeure donc un problème majeur.

Dans cette partie introductive, nous présentons les savanes d'Afrique en général et les savanes d'Afrique de l'Ouest et du Centre en particulier en mettant l'accent sur l'influence des changements climatiques passés et les facteurs anthropiques sur leur évolution. Puis nous allons relever quelques conséquences visibles de cette influence des changements climatiques passés sur l'évolution des savanes d'Afrique de l'Ouest. Ensuite nous présenterons notre modèle biologique (*Borassus aethiopum* Mart.) dont la phylogénie datée du genre, la diversité génétique de l'espèce et sa phylogéographie seront analysées au cours de cette thèse. Nous

allons présenter également le *Raphia vinifera* P. Beauv, un palmier de savane dont l'impact anthropique sur la structuration génétique de ces populations a été analysé au cours de cette thèse et dont les résultats sont également présentés dans cette thèse.

**Les savanes d'Afrique : définition, caractéristique, origine et histoire évolutive à la lumière des changements climatiques passés et autres facteurs environnementaux**

Selon Artigas (2009) les savanes peuvent être définies comme : « *une formation végétale et faunistique intertropicale d'espèces herbacées propres dominées par des bois et des fourrés à forte affinité, de différents stades de recouvrement et avec un rythme biologique soumis à un régime bioclimatique saisonnier humide-sec* ». Cependant cette définition des savanes peut varier en fonction de la composition de la végétation qui compose ces étendues de terre. Ces étendues de terre sèche ou semi-aride occupent 20 % des terres émergées dans le monde, soit 27,6 millions de $km^2$ (Figure 1). En Afrique de l'Ouest et du Centre, elles couvrent selon White (1983) une superficie de 3,7 millions $km^2$ en plus de la zone de transition du Sahel qui s'étend sur 2,8 millions de $km^2$ (Figure 2) (Hutley et Setterfield 2008; Pennington, Lehmann, et Rowland 2018; Boom et al. 2021). Ces zones sèches de l'Afrique de l'Ouest et du Centre sont identifiées par White (1983) comme le Centre Régional d'Endémisme (C.R.E) soudanien et la zone de transition du Sahel qui sont respectivement les domaines des forêts claires avec des faciès de dégradation et une végétation de steppe arborée ou épineuse. Ces biomes pris dans leur ensemble, sont des savanes ou des forêts claires caractérisées par des couches arborées et arbustives à cimes jointives ou presque et des couches graminéennes. Ces deux types de biomes se différencient par la densité de leur peuplement (Blanc-Pamard et Peltre 1987).

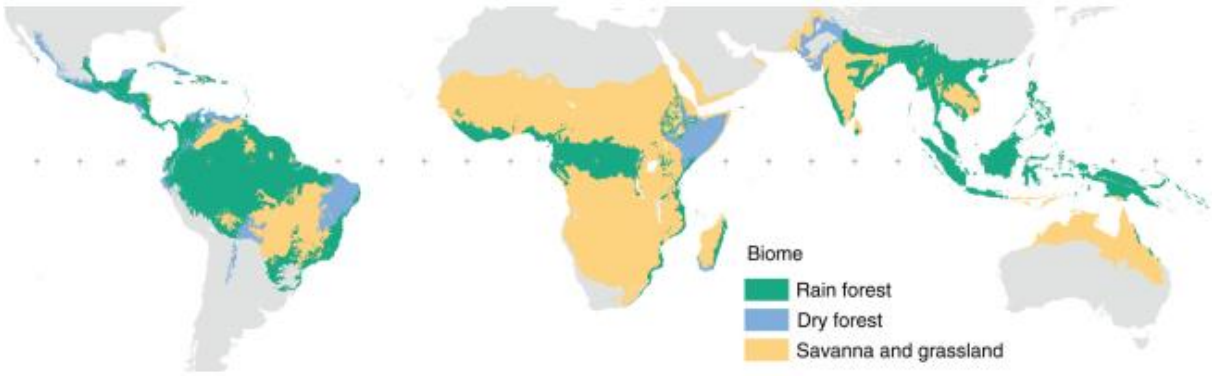


Figure 1 : Distribution mondiale des savanes, des forêts tropicales sèches et tropicales humides.

La couleur jaune montre les différentes terres occupées par la savane ; La couleur vert montre les forêts tropicales humides; La couleur bleu violacé montre les forêts sèches.

Source : Pennington et al. 2018




Figure 2 : Principales régions bioclimatiques d'Afrique de l'Ouest.

La couleur vert foncée montre les deux bloques guinéo-congolais ; La couleur vert claire montre la zone guinéenne ; La couleur orange foncée montre la zone soudanienne ; la couleur orange claire montre les zones occupées par la zone du Sahèl puis nous avons les espaces occupés par le désert en orange ciel.

*Source:* « Les régions ethno-climatique de l'Afrique de l'Ouest » s. d. (USGS)

L'une des premières espèces d'herbes caractéristiques de la présence des savanes en Afrique est *Monoporites annulatus*. Elle a été retrouvée au Nigéria dans des échantillons de pollen du Paléocène (65 – 53 Ma avant le présent) (Salard-Cheboldaeff 1981a; Ade 2016). Cette

observation traduit une présence importante des savanes en Afrique de l'Ouest au Paléocène. Au Cameroun, une importante quantité de pollen d'espèces monocotylédones (graminées et palmiers) retrouvée dans les sédiments carottés renseigne sur une forte présence des savanes au cours du Eocène précoce (56 – 34 Ma avant le présent) (Salard-Cheboldaeff 1979, 1981). Par ailleurs il est observé une diminution du taux de pollen de graminées dans les sédiments africains de l'Oligocène moyen (33,7 – 23,5 Ma avant le présent) à la limite du Miocène précoce (il y a 23,5 Ma), qui correspondrait à une régression des savanes à cette époque (Salard-Cheboldaeff 1981; Bonnie et al. 1999). A l'inverse de la diminution progressive des taux de Graminées dans les sédiments, on observe une augmentation de la diversité des groupes d'espèces forestières, traduisant une dispersion de graines des espèces de la forêt tropicale des plaines (Guinéo-Congolaise) vers la fin du Tertiaire en Afrique de l'Ouest (Jacobs et al., 1999; Jacobs et al., 2010). D'autres échantillonnages réalisés sur les côtes du Cameroun et un échantillon de sédiments marins permettant de remonter de la période du Miocène (23,5 – 5,30 Ma avant le présent) au Pléistocène (environ 2,5 Ma) dans le delta du Niger ont permis de renseigner la littérature sur l'évolution des systèmes forestiers en relation avec les savanes. Ceci à partir de l'Oligocène (33,7 – 23,5 Ma) ainsi que l'évolution de la savane à partir du Miocène moyen (Environ 15 Ma avant le présent) (Salard-Cheboldaeff 1981b; Morley et Richards 1993). Ces différentes études suggèrent une expansion de la végétation forestière et une réduction de la taille de la savane vers la fin de l'Oligocène en Afrique de l'Ouest. D'autres études sur les espèces forestières telles que les genres *Cola et Pollia*, datées entre 12,6 à 10 Ma correspondant au Miocène moyen confirment l'expansion des forêts humides au détriment des savanes (Bonnie et al., 1989; Jacobs et al., 1999). Les principales causes de ces variations de la taille des savanes dans leur évolution sont les fluctuations climatiques passées qui ont marqué ces différentes époques (Bonnie et al. 1989; Kingston et al. 2002). En ce qui concerne le Pliocène,

les conditions climatiques particulièrement marquées par des alternances de phases humides et sèches n'ont pas permis une bonne conservation de la matière organique (feuilles, fruits, bois, pollens et graines, …) dont l'analyse permettrait de comprendre la dynamique de la végétation à cette époque (Bonnie et al. 2010b). Malgré ces conditions défavorables, des études sur les pollens terrestres du Plio-pléistocène (3,05 – 2,58 Ma) en Afrique de l'Est ont permis de noter la dominance de Graminées dans les échantillons de pollens obtenus en Ethiopie, Kenya et Tanzanie, traduisant une expansion des savanes au cours de cette période de transition (Jacobs, Pan, et Scotese 2010; Jacobs et Deino, 1996). Ces données sont confirmées grâce aux résultats d'une étude phylogénétique datée utilisant des arbres de savane africaine qui suggèrent une expansion des savanes étendues et atteignant l'Afrique australe vers 3 Ma (Davies et al. 2020).

Les travaux de Miller et Gosling (2014) ont révélé qu'au cours des 520 derniers siècles, la végétation d'Afrique tropicale de l'Ouest a été à dominance savanicole avec la présence des taxons comme les *Cyperaceae*, les *Chenopodiaceae-amaranthaceae* et les *Caryophyllaceae*. Suite à l'analyse de plusieurs publications portant sur des données polliniques (Dupont et Agwu, 1992; Frédoux, 1994; Dupont et Weinelt, 1996; Dupont et al., 1998 ; Miller et Gosling, 2014), ces mêmes auteurs (Miller et Gosling, 2014) ont identifié quatre périodes d'un intervalle de 100 ans favorables à l'expansion des forêts au cours de l'Holocène (11 700 ans - présent) lors des périodes interglaciaires. En Afrique de l'Ouest, d'autres auteurs (Salzmann, Hoelzmann, et Morczinek 2002a; Russell, Talbot, et Haskell 2003a) ont identifié une série de modifications climatiques et géomorphologiques telles qu'une rupture climatique au large du Sahara, une baisse du niveau des lacs Tila et Bosumtwi respectivement au Nigéria et au Ghana. Selon ces auteurs, ces modifications permettent d'identifier une période d'aridification du milieu Ouest africain au début du Pléistocène (il y a 3,5 - 2,58 Ma avant le présent) favorisant l'avancée des savanes. D'autres études, par ailleurs sur les données polliniques et des spores

marines issues du Golfe de Guinée rapportent que toutes les périodes glaciaires du Quaternaire étaient caractérisées par une expansion des savanes. Ces périodes glaciaires ont permis de démontrer également l'existence d'une trouée de savane (couloir sec dahoméen ou Dahomey Gap) entre les deux blocs de forêt tropicale il y a 150 000 ans (Assi Kaudjhis et al. 2010 ; Miller et Gosling 2014). Pendant, le Plio-pléistocène caractérisé par d'importantes oscillations climatiques, les écosystèmes de forêts sèches et de savanes ont connu des expansions et contractions cycliques limitées de part et d'autre par l'expansion de la forêt humide tropicale et l'aridification (Plana 2004). D'après Maley (1987; 2001), les reliques de végétation sèche ou les enclaves de savanes persistantes dans la forêt ombrophile d'Afrique de l'Ouest et du Centre seraient les refuges de savanes laissés par le dernier maximum glaciaire (23 – 19 ka). L'une des conséquences directes des oscillations climatiques passées sur les savanes d'Afrique de l'Ouest pourrait être le couloir de sécheresse appelé couloir sec dahoméen ou Dahomey Gap.

**Conséquences visibles des changements climatiques passées sur la végétation actuelle en Afrique de l'Ouest : couloir sec dahoméen ou Dahomey Gap**

La rupture observée entre le bloc forestier Guinéo-Congolais appelé couloir sec dahoméen est une coupure d'environ 200 à 600 km allant de l'Est du Ghana au sud du Bénin et l'Ouest du Nigéria (Figure 3) (White 1986). Cette trouée sépare la forêt humide Guinéo-Congolaise en deux blocs : la haute Guinée à l'Ouest (Bloc d'Afrique de l'Ouest) et la basse Guinée et congolais (bloc d'Afrique Centrale) à l'Est. Cependant, les limites de cette zone géographique ne sont pas bien définies et les connaissances actuelles sur les frontières de cette zone restent vagues (White 1986; Ballouche et al. 2000; Tossou 2002; Salzmann et Hoelzmann 2005; Couvreur et al. 2021) et quelque peu contester selon les auteurs (Droissart et al. 2018). La

formation du couloir dahoméen peut être attribuée à deux facteurs principaux que sont : le climat et la pression anthropique. D'un point de vue climatique, le couloir dahoméen est caractérisé par des précipitations annuelles inférieures à 1200 mm, et pouvant même atteindre 800 mm dans le Sud-Ouest du Bénin, Lomé et Accra. Ces précipitations annuelles sont nettement inférieures aux 2000 mm par an relevés dans les forêts adjacentes. Cette baisse des précipitations annuelles au niveau du Dahomey Gap favorise l'avancée des savanes et empêche donc le développement d'une forêt dense humide sempervirente (Ballouche et al. 2000). Le couvert végétal observé dans le Dahomey Gap est constitué principalement des forêts semi-décidues, de végétation ouverte (savane), et surtout de fragment isolé de galerie forestière et des champs, etc (White 1983; Akoegninou, 1984; Akoegninou, 1998; Adomou 2005). De plus, la distribution irrégulière des précipitations sur toute l'année et l'existence de saison sèche marquée participent au maintien et à la progression de la savane sur ces vastes étendues de terre (Demenou 2018a). Par exemple au Bénin et au Togo on observe un cycle de saison caractérisé par une saison sèche et une saison pluvieuse. D'après Tossou (2002), la végétation du Dahomey Gap (Figure 3) est caractérisée par une absence de forêts denses humides continues. Plusieurs études récentes (Salzmann et Hoelzmann 2004; Demenou, Doucet, et Hardy 2018; Donkpegan et al. 2019b; Demenou et al. 2020) basées sur des données génétiques sur quelques espèces de forêt retrouvée dans cette zone ont prouvé qu'au cours des phases humides de l'Holocène, toute cette surface actuellement occupée par les savanes était couverte par les forêts. De plus l'origine des espèces forestières retrouvées dans cette zone a été identifiée comme étant l'Afrique Centrale (Demenou, Doucet, et Hardy 2018; Donkpegan et al. 2019b; Demenou et al. 2020).

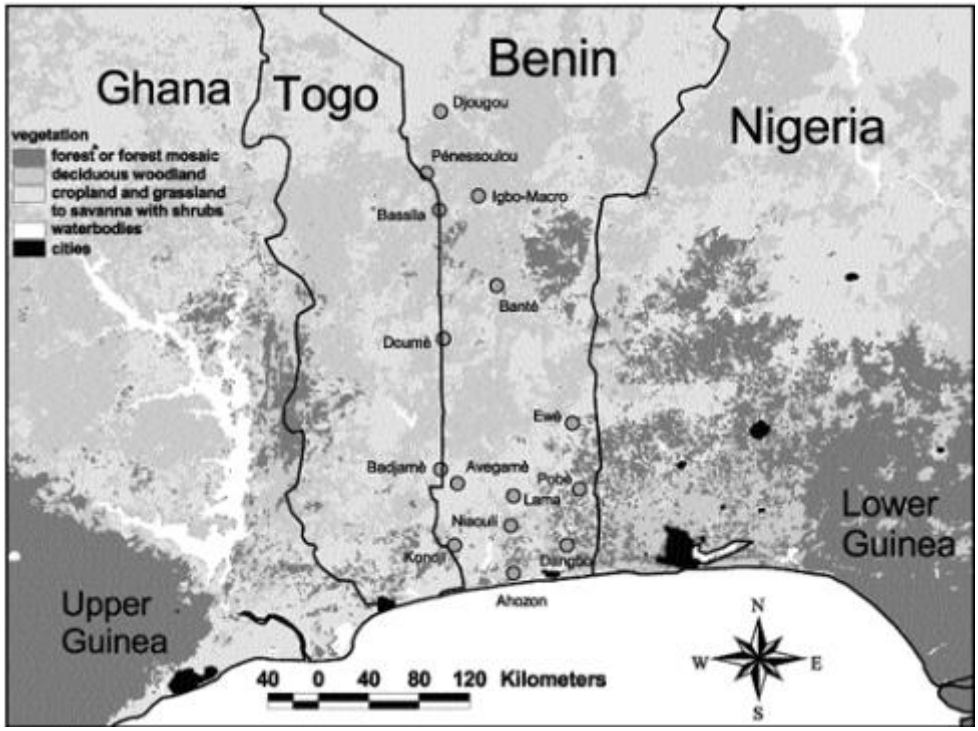


Figure 3 : La zone d'Afrique de l'Ouest montrant le Dahomey Gap et la végétation rencontrée dans cette zone. Le Dahomey Gap est la zone de rupture de la végétation forestière en gris-clair entre les blocs de forêt oriental et occidental.

Source : Adomou et al. 2009

Pour ce qui est de la pression des activités humaines dans cette zone, il apparaît clairement que l'action anthropique joue un rôle essentiel dans le maintien de l'état fragmenté de la végétation forestière du Dahomey Gap (Dupont et al. 2000; Demenou 2018b). La zone des savanes soudaniennes en Afrique de l'Ouest a connu d'importantes activités agropastorales au cours de l'Holocène moyen (7500 à 2500 ans avant le présent) supposant une augmentation de la pression anthropique. Les vestiges de métaux trouvés sur les lieux de travail et datés suggèrent le développement de l'activité humaine entre 2500 et 2200 ans avant le présent (Schwartz 1992). Sur les sites de Kintampo au Ghana et le foyer agricole Ouest-africain, se sont développés plusieurs activités telles que l'élevage d'animaux domestiques et des cultures comme, le mil, le riz africain et à l'abord des forêts du palmier à huile et de l'igname (Talbot

1984; Lézine 1989; Demenou, Doucet, et Hardy 2018). Tognimassou (1993) dans sa synthèse sur les recherches archéologiques au Bénin et au Togo a démontré la présence de l'homme sur tout le territoire du Bénin et du Togo et surtout aux abords des vallées vers 10000 ans avant le présent. D'autres auteurs ont fait des observations similaires grâce à la découverte de vestiges archéologiques des sites de métallurgie du fer au Bénin et dans la sous-région qui soutiennent ces résultats (Sabi-Monra., Adandé., et Bagodo 1994; Wantchécon 1983). Bien que le rôle de l'Homme dans l'apparition de ce couloir de sécheresse ne soit pas entièrement accepté, ces travaux révèlent que l'Homme a été déterminant dans le maintien de l'état fragmenté de la végétation au niveau du couloir sec dahoméen. Nous pouvons retenir de ces différents travaux que le climat passé a été le principal déterminant dans l'installation du Dahomey Gap et son maintien a été accompagné par les facteurs anthropiques.

**Importance des espèces de savanes pour les populations et besoin de recherche pour la compréhension de l'évolution de ces biomes**

Les domaines soudanien, sahélien et guinéen regroupent plusieurs types de végétation que sont : les forêts galeries, les forêts claires, les forêts claires indifférenciées, les savanes arborées ou boisées, les franges rupicoles sub-sahériennes, les steppes et les savanes arbustives, etc (Bellefontaine et al. 1997). Les végétations sèches de type forêts sèches rencontrée dans la zone soudanième sont le plus souvent retrouvées sur des aires protégées comme le Parc Pendjari au Bénin et le Parc Arly au sud du Burkina Faso, le Parc Niokolo-Koba au Sénégal. Il y a également les forêts galeries, les forêts claires indifférenciées, les savanes arborées ou boisées, les steppes et les savanes arbustives. Les principales espèces qui dominent ces zones sèches sont le *Borassus aethiopum, Borassus akeassii, Afzelia africana, Pterocarpus erinaceus, Parkia*

*biglobosa, Khaya senegalensis,* etc (Bellefontaine et al. 1997). Seulement en Côte d'Ivoire et principalement dans la région de Ferkessédougou où on retrouve ces types de végétation, une étude sur la végétation et l'usage des plantes qui s'y trouvent a recensé 192 espèces végétales réparties en 148 genres et 64 familles (Cissé et al. 2020). Les usages identifiés pour ces 192 espèces vont de l'alimentation à la médecine. Au niveau des pays de l'Afrique Centrale comme le Cameroun, on distingue par endroits ces types de végétation savanicole et les principales espèces qui s'y retrouvent sont les *Raphia vinifera, Acacia nilotica, Hyphaene thebaica, Borassus aethiopum,* etc. (Hiol et Kemeuze, 2014). Les différentes espèces rencontrées dans ces biomes fournissent divers services écosystémiques et revêtent une importance capitale dans l'économie des ménages et ont également des valeurs culturelles et médicinales pour les populations locales. Ces populations exploitent la plupart de ces espèces comme bois-énergie (combustible) pour la fabrication de charbon de bois dont la consommation au Cameroun par exemple est estimée à 2,2 millions de tonnes par an pour un revenu de 186,81 milliards de francs CFA (Atyi et al. 2013). En Côte d'Ivoire, 90 % de la population urbaine et 100 % des ménages ruraux des zones de savane utilisent le bois ou le charbon comme combustible pour la cuisine (Djakalia et al. 2016). D'autres espèces de savanes comme *B. aethiopum, B. akeassii, Adansonia digitata, Hyphaene thebaica*, *Raphia sudanica* sont utilisées pour la fabrication d'ustensiles (mortier, récipients, manches d'outils, éventails, etc.). Toujours parmi les espèces de savane, on enregistre plusieurs produits forestiers non ligneux (PFNL) qui sont utilisés pour la fabrication des meubles, des œuvres d'art et pour la construction (Hiol et Kemeuze 2014; Ouinsavi, Gbémavo, et Sokpon 2011). Nous pouvons également noter l'importance des espèces de savanes dans l'alimentation et la médecine par exemple : les fruits de *Adansonia digitata et Borassus aethiopum* sont utilisés pour la fabrication de boissons (Cisse et al. 2020; Donou Hounsode et al. 2014; Issa et al. 2018).

Au regard de ces usages qui illustrent l'importance des espèces de savanes pour les populations locales, ces espèces font face à d'importantes menaces surtout anthropiques. Quelques unes des menaces les plus importantes pour les espèces de savanes sont les feux de brousse pour la restitution des pâturages et la chasse (Guillaumet et Morat 1990), la culture itinérante sur brûlis (Djakalia et al. 2016; Cisse et al. 2020). La création de vastes blocs agro-industriels et agropastoraux par exemple au Nord de la Côte d'Ivoire, au Centre du Bénin et au Cameroun (Guillaumet et Morat 1990; Ambe 2001; Fao 2001).

En dépit de l'importance des espèces de savane pour les populations locales et les menaces en général qui pèsent sur leur présence dans les savanes, leur dynamique évolutive et leur diversité génétiques restent largement inexplorées en Afrique de l'Ouest (Davies et al. 2020). En effet, la plupart des travaux portant sur l'Afrique de l'Ouest et prenant en compte le couloir sec dahoméen se sont intéressés aux espèces de forêt qui s'y trouvent. Ces travaux de phylogénie et de phylogéographie ont permis d'expliquer que la variation de la taille, la fragmentation et la composition en espèces végétales de ces biomes et ces spécificités sont en partie des conséquences des événements climatiques passés (Demenou 2018b; Demenou et al. 2020; Dagallier et al. 2020; Ahossou et al. 2020; Couvreur et al. 2019; Helmstetter et al. 2019). Par contraste aux nombreux travaux qui expliquent l'évolution des forêts, les connaissances sur la dynamique et l'évolution des savanes sub-sahariennes reposent en partie sur des enquêtes polliniques, l'analyse de certains évènements climatiques et des données palynologiques. Ces données fossiles étudiées ne tiennent pas forcément compte de la grande diversité des savanes, ni des difficultés de fossilisation de certaines graines ou pollens de grande taille des espèces de savanes (Bellot et al. 2020; Koenen et al. 2021). Ceci limite la force d'inférence que l'on peut tirer de ces types de données (Bellot et al. 2020). Il apparaît donc important avec l'évolution des techniques pour les études phylogénomiques datées et la phylogéographie d'étudier

l'histoire évolutive des espèces de savanes sous l'action des oscillations climatiques passées. Les résultats qui découlent de ces travaux permettront de fournir des données contribuant à la conservation et la gestion durable des espèces de savanes tout en inférant l'histoire de leur habitat. Nous avons identifié ici deux modèles biologiques dont l'importance pour les populations est établie: *Borassus aethiopum* Mart., caractéristique des savanes sub-sahariennes, et *Raphia vinifera*, rencontré dans la végétation ouverte à l'Ouest du Cameroun.

Dans un premier temps, nous allons passer brièvement en revue quelques informations disponibles sur le genre *Borassus* telles que : ses relations taxonomiques connues, sa distribution, son écologie en général, et les usages de quelques espèces de ce genre. Ce genre de palmier a très peu fait l'objet d'étude phylogénétique datée et par conséquent les relations taxonomiques et l'âge de spéciation des espèces de ce genre restent quelque peu ambigus. La seule étude phylogénétique et biogéographique à notre connaissance qui s'était concentrée sur ce genre de palmier est la révision taxonomique réalisée par Bayton (2005) intitulé : « *Borassus* L. et les palmiers borassoides : systématique et évolution ». Les conclusions de ces travaux ont permis d'établir la monophylie du genre et la reconnaissance de 5 espèces (*B. heineanus*, *B. flabellifer*, *B. akeassii*, *B. madagascariensis* et *B. aethiopum*) au sein du genre *Borassus*. Le genre *Borassodendron* a été identifié comme le genre sœur et leur séparation a été datée à environ 35 Ma vers la fin de l'Éocène en utilisant des points de calibrations fossiles, géologiques et secondaires. *Borassus madagascariensis* a été proposé comme espèce sœur de *B. aethiopum*. L'hypothèse formulée selon laquelle la divergence des espèces de ce genre serait en rapport avec l'éclatement de l'ancien continent du Gondwana a été réfutée. L'hypothèse d'une divergence au sein du genre en rapport avec les changements climatiques passés notamment les phases arides a été formulée. Quelques années plus tard Bellot et al. (2020) dans l'étude intitulée : « Sur l'origine des graines géantes : la macro-évolution du cocotier double

(Lodoicea maldivica) et de ses parents (*Borasseae,* Arecaceae) » s'est également intéressée en partie à l'évolution des espèces du genre *Borassus*. Ces auteurs ont également utilisé les mêmes types de marqueurs moléculaires que Bayton (2005) cependant, les conclusions n'ont également pas permis d'élucider de façon claire le sens de migrations des espèces du genre *Borassus* surtout entre les espèces africaines (*B. aethiopum* et *B. akeassii*) et malgache (*B. madagascariensis*). Ce qui nous a conduits dans le chapitre 2 de cette thèse à reconstruire l'histoire évolutive du genre *Borassus* grâce à la phylogénie datée et de déterminer entre autres l'âge de spéciation de *B. aethiopum* et son espèce sœur. En Afrique, l'espèce du genre *Borassus* la plus utilisée et la plus connue dans la zone subsaharienne est le *B. aethiopum*. Cependant, cette espèce n'avait reçu aucune attention d'étude génétique à ce jour. De plus, les mécanismes ayant conduit à l'état actuel de la distribution de ces populations dans les savanes d'Afrique restent non déterminés. Raison pour laquelle nous nous sommes intéressés à cette espèce de palmier pour évaluer l'impact des changements climatiques passés sur les biomes de savanes d'Afrique de l'Ouest et du Centre (Chapitre 1 et 3). Nous allons présenter ici quelques caractéristiques botaniques de cette espèce telle que sa description taxonomique, son écologie, sa distribution et pour finir quelque usage qui révèle l'importance de cette espèce pour les populations locales et le besoin d'une caractérisation génétique ainsi qu'une étude phylogéographique sur cette espèce. Ces travaux de phylogénie et de phylogéographie permettront également de disposer d'information fiable et nécessaire au politique de gestion de cette espèce.

Ensuite, nous nous sommes intéressés à une espèce du genre *Raphia* très connue en Afrique Centrale compte tenu de ses nombreux usages depuis des générations. Cette espèce de *Raphia* a été dans un premier temps mal identifiée et considérée comme endémique du Cameroun (*Raphia mambillensis*) puis récemment décrite par Mogue Kamga et al. (2019) et identifiée

comme l'espèce *Raphia vinifera*. Elle subit une énorme pression anthropique depuis des années dans l'Ouest du Cameroun (Cosiaux et Couvreur, 2020). Cela fait qu'aujourd'hui l'exploitation de cette espèce dans l'Ouest du Cameroun est soumise à des règles de période d'exploitation, mises en place par les exploitants afin de préserver le développement et la disponibilité des peuplements qu'on ignore s'ils sont naturels ou entièrement cultivé (reconstituer) dans tout l'Ouest du Cameroun (Cosiaux et Couvreur 2020). Ce qui nous amène dans le Chapitre 4 de ce manuscrit à faire une étude de structuration génétique de *R. vinifera* dans l'Ouest du Cameroun afin de déterminer si les peuplements collectés sont des peuplements sauvages ou si ce paysage a été façonné par l'homme au fil du temps. Dans cette partie introductive nous allons présenter brièvement l'espèce *Raphia vinifera* en passant en revue sa taxonomie, sa description, sa distribution, son écologie et ces usages.

**Caractéristiques du genre *Borassus***

Le genre *Borassus* appartient à la famille des *Palmae* ou Arecaceae, l'une des familles d'angiospermes monocotylédones les plus diversifiées qui rassemble plus de 2600 espèces regroupées en cinq sous-familles, 28 tribus et plus de 181 genres (Baker et Dransfield 2016). Le genre *Borassus* (sous-famille des *Coriphoïdeae*) est de la tribu des *Borasseae* qui est subdivisée en deux sous-groupes : *Lataniinae* et *Hyphaeninae*. Le genre compte cinq espèces dioïques (pied mâle et femelle distinct) (Tableau 1 ; Figure 4) et sa distribution s'étend dans toute la zone tropicale, de l'Afrique de l'Ouest, en Inde, en Asie du Sud-Est, en Nouvelle-Guinée et en Australie (Figures 4 et 5) (Uhl, Dransfield, et Moore 1987; Bayton, 2005).

Tableau 1 : Liste et aires de répartition des cinq espèces du genre *Borassus*.

| Nom de l'espèce | Localisation | Type de couvert |
|---|---|---|
| *Borassus heineanus* | Papouasie-Nouvelle-Guinée, Indonésie | Forêt tropicale (Odoro Becc, 1914 ; Bayton, 2007) |
| *Borassus flabellifer* | Inde, Sri Lanka, Asie du Sud-Est (Malaisie, Cambodge), Papouasie Nouvelle-Guinée. | Savane et végétation ouverte (Bayton, 2007) |

| | | |
|---|---|---|
| *Borassus akeassii* | Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Mali, Niger, Nigéria, Sénégal et République Centrafricaine. | Savane et végétation ouverte (Bayton, Ouédr. & Guinko. 2006 ; Arbonnier, 2002) |
| *Borassus madagascariensis* | Madagascar | Savane (Hortus Maurit, 1837 ; Bayton 2007) |
| *Borassus aethiopum* | Du Sénégal à l'Ouest à l'Éthiopie à l'Est et de l'Éthiopie vers l'Afrique du Sud | Savanes (Bayton 2007) |

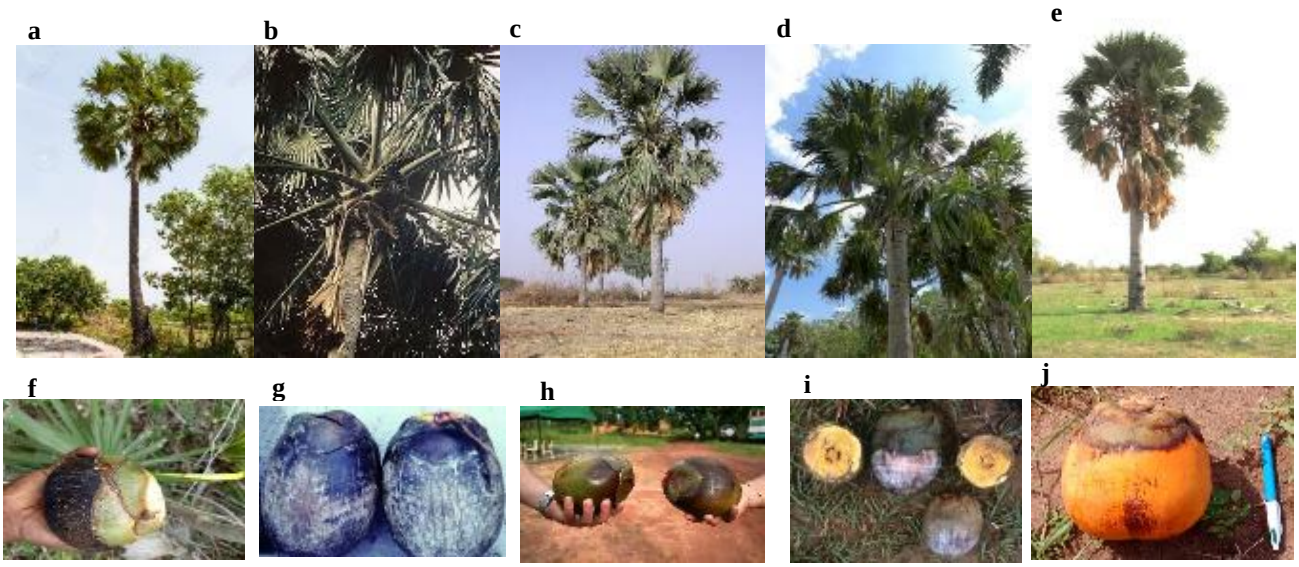


Figure 5 : Les cinq espèces du genre *Borassus*.

*Borassus flabellifer*: a: individu adulte; f : fruit mature. *Borassus heineanus*: b: individu adulte; g : fruit mature. *Borassus akeassii*: c: individu adulte; h : fruit mature. *Borassus madagascariensis*: d: individu adulte; i : fruit mature. *Borassus aethiopum*: e: individu adulte; j : fruit mature.

Sources : https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:664876-1

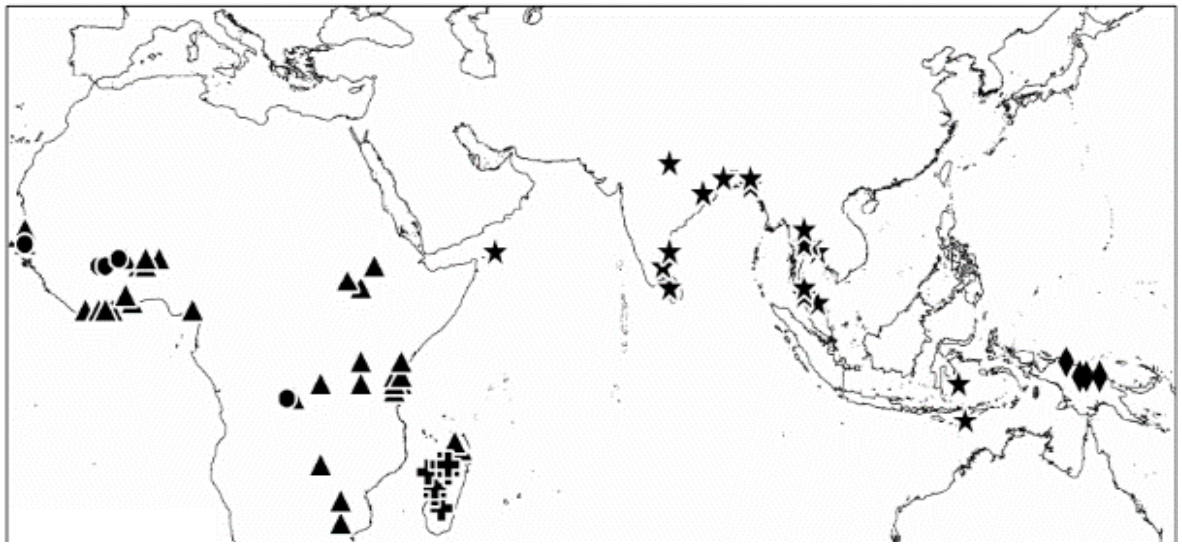

Figure 4 : Répartition des palmiers *Borassus* dans le monde.

Les données de répartition sont basées sur les données des spécimens de plusieurs herbiers.

Source : Bayton, 2005.

D'un point de vue écologique, les palmiers du genre *Borassus* se reproduisent dans les régions semi-aride et subhumide d'Afrique et d'Asie (Bayton, 2005). En Afrique comme en Asie les populations de *Borassus* forment des peuplements denses ou ouverts autour des espaces agricoles, dans la savane et parfois en forêt (*B. heineanus*). Les espèces de palmiers du genre *Borassus* sont connues sous plusieurs noms vernaculaires dans leur zone de reproduction. Dans les pays francophones d'Afrique les espèces du genre présent sur le continent sont connues sous le nom de « rônier », une transformation du nom « ronn » qui est l'appellation en langue wolof donnée par Adanson, le premier botaniste à avoir signalé la présence du genre *Borassus* sur le continent vers 1750 au Sénégal (Chevalier 1930; Giffard 1967). En Asie comme dans d'autres pays anglophones d'Afrique, le genre *Borassus* est connu sous le nom de palmyrah (ou palmyra) ou palmier éventail africain (Bayton, 2005). Classés dans la catégorie des Produits Forestiers Non Ligneux (PFNL), les palmiers *Borassus* interagissent avec de nombreuses espèces animales et sont d'une importance économique majeure pour les populations locales qui exploitent les différentes espèces du genre à diverses fins : alimentaire, artistique, médicinale, etc.

Les palmiers *Borassus* sont connus pour les nombreux produits forestiers non ligneux qu'ils fournissent aux populations locales tels que le bois, la sève, les feuilles, les fruits, etc. (Burkill 1997; Davis et Johnson 1987; Bayton 2007). En Asie, comme en Afrique la sève est utilisée par exemple pour la fabrication du vin de palme par fermentation ou du sucre par cristallisation (Davis et Johnson 1987; Morton 1988; Sambou et al. 2002; Bayton 2005). Les feuilles sont utilisées pour la fabrication d'objets d'art divers et variés. Le tronc des palmiers *Borassus* est très résistant à l'attaque des termites et donc fortement utilisé dans la construction des maisons et des ponts dans les milieux ruraux (Singh, Rout, et Kumari 2021; Rahman et al. 2021). D'après Cabanne et Chantry (1967) *Borassus flabellifer* est considéré comme le palmier ayant 801

utilisations et est connu sous le nom de palmier à sucre ou thnot (Sankaralingham et Khan, 2001 ; Bayton, 2005). Au Bénin par exemple, la commercialisation de l'hypocotyle du rônier est l'une des principales activités génératrices de revenus des populations locales dans la région de Ouoghi au centre du pays (Ohin et al. 2018; Ouinsavi, Gbémavo, et Sokpon 2011; Houankoun 2004). Ces différentes pratiques d'exploitation des ressources issues des palmiers *Borassus* handicapent la reproduction de l'espèce et ne favorisent pas le maintien et le renouvellement des peuplements naturels.

### ***Borassus aethiopum*** **: Botanique (description, écologie, distribution, usage)**

Le Rônier d'Afrique (*Borassus aethiopum* Mart.) (Figure 6) est l'une des 5 espèces du genre *Borassus* et a été découvert au Sénégal par Adanson vers 1750 (Giffard, 1967). Dans l'encyclopédie de 1804, Lamarck rattache cette nouvelle espèce du genre *Borassus* au *Borassus* de l'Inde (*Borassus flabellifer*) et lui donna le nom « Rondier ». En 1838 et en 1849 Martius, dans son histoire des palmiers, fit une distinction entre l'espèce *Borassus aethiopum* et *Borassus flabellifer* et a délimité sa zone de distribution à l'Afrique de l'Ouest (Chevalier, 1949; Giffard, 1967). Chevalier (1949), signale la présence de l'espèce en Afrique de l'Est et dans les savanes d'Afrique Centrale. Pendant longtemps la présence en Afrique de plusieurs espèces de *Borassus* (*Borassus aethiopum et Borassus flabellifer*) ou une seule espèce (*Borassus aethiopum*) avec des variétés a été sujet de débat entre les spécialistes. Malgré la description de *Borassus madagascariensis* par Bojer (1837) cette espèce endémique de Madagascar a été pendant longtemps confondue au rônier africain (*Borassus aethiopum*). En 2005 une nouvelle espèce (*Borassus akeassii*) aussi initialement considérée comme une variété de *Borassus aethiopum* a été décrite au Burkina Faso par Ouédraogo et al. (2005). *Borassus akeassii* se distingue de *B.*

*aethiopum* par quelques traits morphologiques des pétioles et caractéristiques du fruit. Les pétioles sont verts pour l'espèce *B. akeassii* et de couleur jaune pour l'espèce *Borassus aethiopum*. Le fruit arrivé à maturité passe de la couleur verte à jaune orangée chez *Borassus aethiopum* tandis qu'il conserve la couleur verte chez *Borassus akeassii*. L'apex des fruits est déprimé chez *Borassus aethiopum* mais pointé chez *Borassus akeassii* (Bayton, Ouédraogo, et Guinko 2006; Bayton et Ouédraogo, 2009).



Figure 6 : Individus de *B. aethiopum* dans un champs de maïs à Matérie, Bénin.

Crédit photo : Mariano KPATENON

D'un point de vue morphologique, *Borassus aethiopum* (Figure 6) est un palmier à tige non ramifié ou stipe mesurant entre 20 à 30 m de haut et présente une forme cylindrique irrégulière, avec un renflement à son tiers supérieur. Parfois chez les sujets âgés on observe un deuxième renflement sur le stipe (Jean 1963). Chez le jeune rônier les feuilles sont réparties le long de la tige ; par contre chez le rônier adulte, les feuilles sont regroupées au sommet du stipe en forme d'une couronne de feuilles flabelliformes plus ou moins développée selon l'état végétatif du palmier. Elles apparaissent par 3 au centre de la couronne et avec le temps (entre 4 à 5 ans) elles sont repoussées progressivement vers l'extérieur. Erigées au début, les feuilles s'inclinent peu à peu et finissent par pendre quand elles se dessèchent puis se détachent progressivement du stipe. Les feuilles adultes ressemblent à de grands éventails de 3 à 4 m d'envergure.

Dans son habitat naturel, la pollinisation est partiellement assurée par les insectes tels que *Chrysomya* sp., *Rhinia apicalis* (Diptera), *Apis mellifera* et *Nomia* sp (Hyménoptères) comme pollinisateurs potentiels du palmier (Thione, 2000). D'après le même auteur 73 % de la pollinisation chez ce palmier est entomophile (assuré par des insectes), 23 % anémophile (assurée par le vent). Le pétiole mesurant entre 150 à 200 cm, augmente en épaisseur et en longueur avec l'âge du rônier et stade de développement de la feuille. Il est difficile de déterminer morphologiquement l'âge d'un rônier car plusieurs facteurs tels que le climat, le sol, les facteurs anthropiques peuvent retarder ou limiter la croissance du palmier.

*Borassus aethiopum* se retrouve dans la zone soudanienne qui présente les conditions climatiques optimales pour son développement (Giffard, 1967). *Borassus aethiopum* se retrouve de préférence sur des sols humides ou périodiquement inondés des zones sahéliennes

et soudanaises d'Afrique (Chevalier 1949; Sambou, Lawesson, et Barfod 1992). Cette espèce est un indicateur des niveaux aquifères élevés ce qui justifie sa présence logique près des cours d'eau et des zones avec une pluviométrie annuelle variant entre 400 mm et 1600 mm (Giffard, 1967 ; Sambou, 1992).

*Borassus aethiopum* offre aux populations une grande utilité sur le plan nutritionnel, écologique, thérapeutique (Figure 7) (Blanc-Pamard et al. 1978; Sakandé, Nacoulma, 2004). Les racines sont utilisées comme anti-asthmatiques et les feuilles entrent dans la fabrication de nombreux produits artisanaux. Les pétioles sont exploités comme clôtures, bois de chauffage et l'hypocotyle est comestible (Houankoun, 2004). Chez le pied mâle, les fleurs sont utilisées comme fertilisants des sols et comme fourrage (Price and Gaoh, 1998). Les racines sont considérées comme un excellent fourrage et leur teneur en nutriments est similaire à celle des fruits à coque et du niébé (Atta, 1997). Selon Sokpon (2004), plus de 88 % des organes du palmier africain sont utiles (amandes, hypocotyle, fruits, feuilles, pétioles, lames, tronc) mais essentiellement exploités sous forme de populations naturelles. Leurs utilisations varient en fonction des régions (Coulibaly, 2017). Au Bénin, un travail de recherche réalisé par Sokpon et al. (2004) et Houankoun et al. (2003) a révélé que 90% des ménages consomment l'hypocotyle du rônier, 16% les fruits et 13% les amandes. Les mêmes auteurs ont montré que le rônier africain est utilisé dans la pharmacopée traditionnelle pour le traitement de 33 maladies et est d'une grande importance pour les Lokpa et Yom, groupes ethniques rencontrés dans le nord-ouest du Bénin. La vente de ces produits sur les marchés permet aux vendeuses de dégager une marge brute mensuelle allant de 20920 à 112975 FCFA pour l'hypocotyle, 332 à 1925 FCFA pour les vendeuses d'éventails, une moyenne de 6500 FCFA pour les chapeaux et de 1616 à 3264 FCFA pour les vendeuses de tamis, ce qui constitue un revenu d'appoint significatif pour les ménages (Houankoun 2004; Ouinsavi, Gbémavo, et Sokpon 2011).



Figure 7 : Quelques usages de *B. aethiopum* ; a : fruits avec chair enlevée. b, c : fruits grillés. d, e : faire bouillir les fruits mûrs dans l'eau avec du maïs, du riz ou du millet. f : amande après germination. g : hypocotyls fraîchement récoltés. h : hypocotyls bouillis et emballés, prêts à être vendus. i : hypocotyls bouillis non encore coupés. j : hypocotyls frais coupés et mis dans de l'alcool de palme. k : potasse solide provenant d'écorces de graines incinérées. l : un vieil homme qui fabrique un tamis. m : échantillons d'un tamis de maïs. n : éventails faits de feuilles. o : éponge faite de pétioles. p : battledore fait de pétioles. q : porte faite de pétioles. r : instrument fabriqué à partir de feuilles pour les cérémonies dans la région de Berba (Bénin).

Source : Salako et al. 2015 et 2018.

***Raphia vinifera* : taxonomie, description, distribution, écologie et usage**

*Raphia vinifera* (Figure 8) est un palmier appartenant au genre *Raphia* qui compte 22 espèces connues. Ce genre est distribué en majorité en Afrique continentale, avec seulement 2 espèces hors du continent (une à Madagascar et l'autre endémique d'Amérique du Sud et du Centre) (Dransfield et al. 2008; Stauffer, Ouattara et Stork 2014; Mogue Kamga et al. 2018). D'un point de vue socio-économique, le genre *Raphia* est le plus utilisé parmi tous les genres de palmiers présents sur sa zone de distribution (Burkill 1995; Tuley 1965; Obahiagbon 2009; Mogue Kamga, Sonké, et Couvreur 2019; Cosiaux et Couvreur 2020). *Raphia vinifera* a été décrit pour la première fois par Palisot de Beauvois (1804) qui identifie sa zone de distribution à l'Afrique de l'Ouest principalement aux abords des rivières dans l'actuel Etat du Delta et l'Etat d'Edo et au Sud Est du Nigéria (Mogue Kamga et al. 2019). La plus récente reconstruction phylogénétique moléculaire du genre a été réalisée par Helmstetter et al. (2020) qui classe le *Raphia vinifera* dans la catégorie des moniliformes de Otedoh (1982), identifie ce groupe comme monophylétique et place *R. vinifera* dans un même groupe que *R. ruwenzorica* et le groupe sœur était composé de *R. farinifera* et *R. australis.* Cette phylogénie n'a cependant pas permis d'identifier spécifiquement l'espèce sœur de *R. vinifera* et très peu d'études existent sur l'espèce.



Figure 8 : *Raphia vinifera* dans un champs au Cameroun.

Source : Cosiaux et Couvreur, 2020.

*Raphia vinifera* se distingue facilement des autres espèces appartenant au genre par quelques caractères morphologiques. *Raphia vinifera* (Figure 8) est une espèce de palmiers dépourvue presque de véritable tige et mesure de la base aux feuilles 7 à 10 m au maximum. Les feuilles émergent directement du sol (la base du palmier) et peuvent mesurer entre 7 et 10 m de long. Le pétiole et le rachis peuvent atteindre respectivement 5 m et 6 m de long. L'inflorescence généralement de forme pendante ou semi-pendante peut mesurer de 0,60 à 1,20 m de long au

total et présente une couleur vert claire à vert violet jaune puis brun clair à gris-brun à l'âge adulte (Mogue Kamga et al. 2019; 2020). La fleur staminée forme un calice fusionné, tubulaire portant trois lobes peu profonds avec une corolle à 3 pétales. Les fruits sont ellipsoïdes, oblongs à obovoïdes et mesurent 6 à 9 cm de long (voir plus de détails dans Mogue Kamga et al. 2019).

La zone de distribution de *Raphia vinifera* n'a pas été délimitée de manière précise dans la littérature. Cependant, il est admis qu'il est largement distribué en Afrique de l'Ouest et du Centre (Cameroun) (Figure 9). Ainsi donc on le retrouve au Sud du Nigéria (Otedoh, 1982), au Mali (Bamako et Kita), au Burkina Faso (Sikasso, Bobo-Dioulasso), en Côte d'Ivoire et au Bénin, et sa présence est également signalée au Soudan (Mogue Kamga et al. 2019 ; Cosiaux et Couvreur, 2020). Bien que sa présence en Afrique centrale soit incontestée, en Afrique de l'Ouest selon les auteurs il y a besoin d'une nouvelle étude de terrain afin de confirmer sa présence effective. Au Cameroun par exemple, *R. vinifera* est une espèce sub-montagnarde distribuée dans la lignée volcanique du Cameroun (LVC). Elle est caractéristique des végétations ouvertes de cette zone, appelées « grassfield » (Cosiaux et Couvreur, 2020). Il est courant de le rencontrer dans les champs sur les plaines et sur le flanc des montagnes entre 1500 m et 2000 m d'altitude formant des peuplements mono dominants dans la région de l'Ouest et du Nord-Ouest du pays (Mogue Kamga et al. 2019 ; Cosiaux et Couvreur, 2020). Elle se retrouve facilement le long des cours d'eau et des vallées qui zigzaguent à travers la végétation ouverte. Il faut noter que *R. vinifera* est une espèce couramment cultivée dans l'Ouest du Cameroun malgré le fait que cette information ait été très peu documentée (Mogue Kamga et al. 2019 ; Cosiaux et Couvreur, 2020).

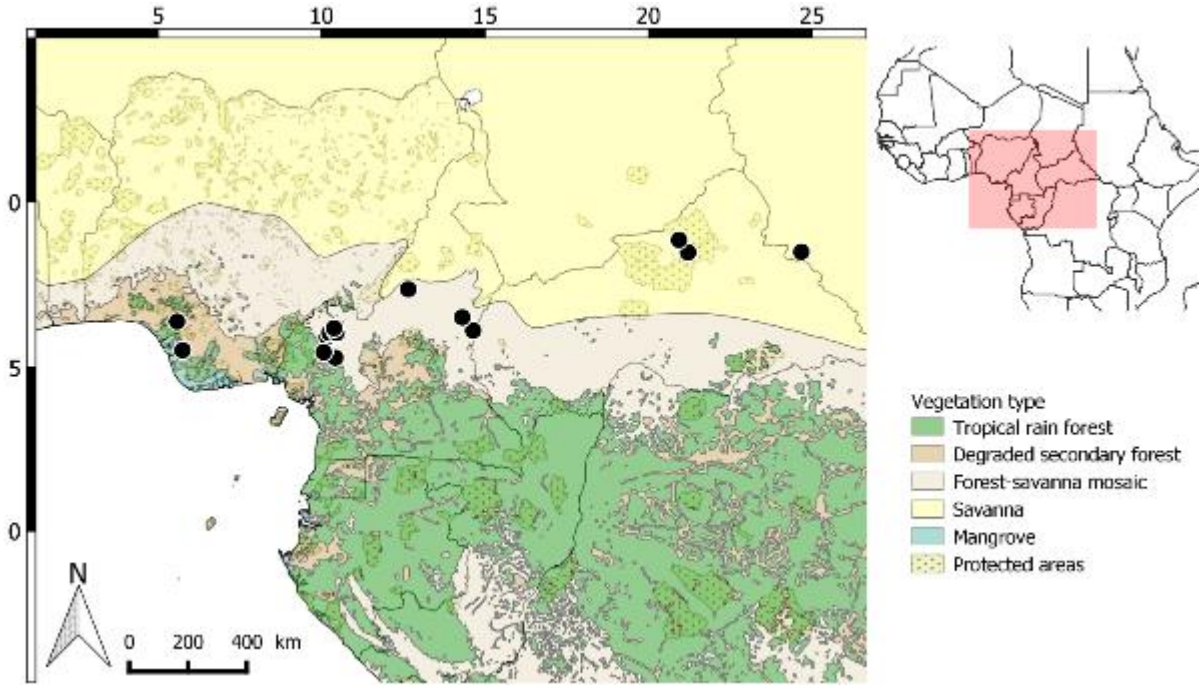


Figure 9 : Distribution de *Raphia vinifera* en Afrique de l'Ouest et du Centre.

Les points noirs sur la carte représentent les points de présence de *Raphia vinifera* en Afrique.

Source : Mogue Kamga et al. 2019.

Au Cameroun comme dans tous les autres pays où la présence de l'espèce est rapportée, il serait impossible de le dissocier du style de vie des populations (Cosiaux et Couvreur, 2020 ; Donnou et al. 2014 ; Mogue Kamga et al. 2020). Les feuilles du *Raphia vinifera* sont utilisées pour la fabrication d'objets divers comme les meubles, les toitures des maisons, des nattes de couchage etc. Le pétiole est connu sous le nom de bambou et est très recherché pour la construction. La sève est souvent collectée et consommée comme vin lors des cérémonies et diverses réjouissances. Les fibres extraites des folioles sont couramment utilisées pour fabriquer des sacs, les graines sont utilisées comme combustible en cuisine et le tronc pourri sert de substrat pour la production des larves comestibles (Cosiaux et Couvreur, 2020 ; Donnou et al. 2014).

Ces nombreux usages qui révèlent l'importance de *Raphia vinifera* pour les populations locales, constituent en même temps une menace pour la conservation de cette espèce. A titre d'exemple, la collecte de la sève pour la fabrication du vin de *R. vinifera* limite fortement voire bloque la reproduction de l'espèce. Les quelques travaux existant sur cette espèce abordent essentiellement des aspects ethnobotaniques et socioculturels (Donnou et al. 2014; Cosiaux et Couvreur 2020) et taxonomiques (Stauffer, Ouattara, et Stork 2014; Mogue Kamga et al. 2018; Mogue Kamga, Sonké, et Couvreur 2019).

**Les marqueurs moléculaires**

En biologie végétale le terme marqueur s'applique à plusieurs concepts, parfois très différents. Il est, par exemple, possible de définir deux types de marqueurs qui sont : les marqueurs physiologiques et les marqueurs génétiques. Les marqueurs génétiques sont, quant à eux, toujours synonymes de loci marqueurs. Une séquence d'ADN marqueur est aussi un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte et/ou sur les génotypes des locus voisins. Les marqueurs génétiques sont par définition des caractères héritables (Santoni et al. 2000). Un bon marqueur génétique doit être à hérédité simple, polymorphe, codominant, non épistatique et neutre (Bretting et Widrlechner 1995; Vienne 1998). Les marqueurs moléculaires en général répondent bien à ces critères. Ils révèlent les modifications intervenues directement sur le patrimoine génétique (ADN) même si ces modifications sont traduites ou non, contrairement aux marqueurs associés à des caractéristiques morphologiques ou biochimiques. Ce polymorphisme de l'ADN résulte de l'accumulation graduelle de mutations, produisant soit des substitutions nucléotidiques, soit des insertions ou délétions d'une ou de plusieurs bases. L'utilisation de ces marqueurs moléculaires est indépendante du stade de

développement de la plante et ils ne sont pas influencés par l'environnement (Santoni et al. 2000). Ces marqueurs ont le potentiel d'exister en nombre illimité, couvrant le génome entier. Les marqueurs moléculaires largement utilisés à ce jour pour les études de variabilité génétique par exemple concernent directement l'information portée par les acides nucléiques ou les produits de la traduction des gènes. On distingue dans cette catégorie les marqueurs codominants tels que les marqueurs microsatellites ou SSR (Simple Sequence Repeat) et les marqueurs dominants tels que les marqueurs AFLP (Amplified Frangment Length Polymorphism).

**Les marqueurs microsatellites (SSR)** :

Les marqueurs microsatellites présents en nombre très élevé dans les génomes, constituent de très bons marqueurs moléculaires. En effet, il s'agit des régions variables d'ADN, ou « loci », dont la séquence contient un motif de 1 à 6 paires de bases répétées plusieurs fois (par exemple : « acacacacacac… », ou « tagtagtagtagtagtag… », etc…). Ces motifs sont encadrés par des séquences flanquantes qui sont généralement conservées entre les espèces (Figure 10). Ce sont des marqueurs polyalléliques, car le nombre des répétitions du motif varie d'une population à l'autre et parmi les individus de la même population. De plus, les microsatellites sont des marqueurs « codominants », qui permettent de distinguer les individus homozygotes des individus hétérozygotes. Ainsi, leur utilisation est très courante dans les études de variabilité génétique (Ballardini et al. 2012) notamment pour caractériser des populations végétales comme le *Borassus aethiopum* (Kpatènon et al. 2020), le *Borassus flabellifer* (Pipatchartlearnwong et al. 2017), le cocotier (Teutal et al. 2000), le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) réalisé par Bakoumé et al. (2015), le sorgho (Grenier 2000), le pêcher

(Aranzana et al. 2002), le riz (Zhou, Xie, et Ge 2003) ; ou bien encore chez les animaux comme les abeilles (Garnery et al. 1998). La conservation des séquences flanquantes des microsatellites permet également la transférabilité de ces marqueurs entre individus du même genre voire de la même famille. Autre exemple, Zhang (2006) a réalisé une étude de portabilité des marqueurs microsatellites du riz et du blé chez des espèces apparentées (Zhang 2006).

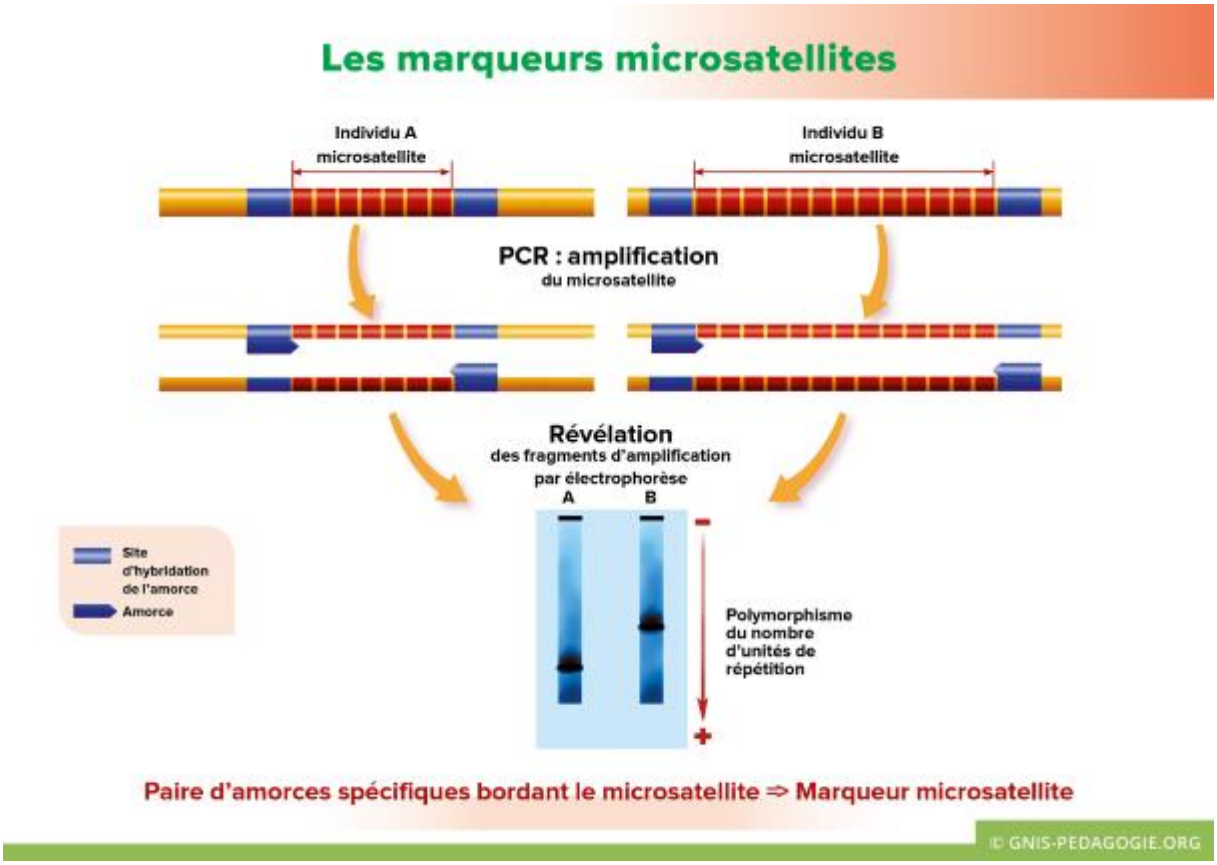


Figure 10 : Illustration présentant les marqueurs microsatellites et leur utilisation pour détecter du polymorphisme.

Souce : https://www.semae-pedagogie.org/sujet/marqueurs-moleculaires/ consulté le 23-01-22 à 15h14mn GMT

**La phylogénie à l'ère du séquençage d'ADN : de Sanger à Illumina (NGS)**

La première technologie de séquençage rapide n'est apparue que près d'une vingtaine d'années après que Watson et Crick, Franklin et Wilkins, ont découvert la structure tridimensionnelle en double hélice de l'ADN. Vers 1977, Fred Sanger et ses collaborateurs inventèrent un procédé

basé sur la détection de fragments partiels de digestion radiomarqués sur gel. Cette méthode représente la première génération de technologie de séquençage de l'ADN (Sanger, Nicklen, et Coulson 1977). Une variante de la méthode de Sanger ; développée par Sanger et Alan Coulson a conduit à la première séquence d'un génome d'ADN, celui du bactériophage φX174, en 1977. Deux ans plus tard, Maxam et Gilbert publient leur technique de clivage chimique qui devient la première méthode largement adoptée pour le séquençage de l'ADN (Maxam et Gilbert 1977). Après l'automatisation de la technique de Sanger en 1980 (électrophorèse capillaire), les années 2000 ont vu la collaboration de plusieurs laboratoires pour tester de nouvelles méthodes et techniques de criblage à haut débit. Une nouvelle technique a annoncé la première vague de technologie de séquençage de nouvelle génération (NGS) ; le pyroséquençage (Young et Gillung 2020). Son principe est basé sur la luminescence produite lors de la synthèse du pyrophosphate et cette technique est devenue la première technologie NGS commerciale à succès (Weber et al. 2007).

Au cours de la décennie suivante, les améliorations apportées aux technologies de séquençage ont permis aux scientifiques de séquencer les génomes de nombreux organismes de plus en plus complexes. Le premier génome fut celui d'une bactérie ; *Haemophilus influenzae* en 2000.

Ces dernières années, les nouvelles technologies de séquençage de l'ADN ont connu un essor fulgurant conduisant à la technique de séquençage haut débit appelé séquençage de nouvelle génération (NGS) (Young et Gillung 2020). Le séquençage haut débit le plus utilisé actuellement est "Illumina", qui permet le séquençage de milliers de courtes séquences d'ADN dont la taille peut varier de 75 à 300 pb en parallèle (van Dijk et al. 2014). La disponibilité des techniques de séquençage d'ADN de nouvelle génération à des coûts raisonnables permet aujourd'hui d'aborder plusieurs questions de recherche en utilisant les données provenant du génome (Schwarze et al. 2020).

En ce qui concerne les études phylogénomiques, les techniques de séquençage de l'ADN nouvelle génération comme Illumina, permettent de séquencer de l'ADN fragmenté que l'on retrouve parfois dans les spécimens d'herbier et de musées (Zeng et al. 2018; Helmstetter et al. 2019; Couvreur et al. 2019; Forrest et al. 2019; Alsos et al. 2020; Helmstetter et al. 2020).

**Phylogénie à l'ère du NGS**

Le séquençage haut débit de nouvelle génération étant capable de générer des millions de séquence d'ADN à moindre coût et dans des temps relativement courts, les études phylogénétiques sont passées de l'utilisation de quelques séquences d'ADN à des centaines de séquence d'ADN (Rohland et Reich 2012). Il faut préciser que l'avancée des techniques de séquençage NGS et la capacité de les couplées aux techniques de capture de gènes ciblés ont permis ces dernières années d'examiner les relations phylogénétiques au sein de plusieurs groupes de plantes (Mamanova et al. 2010; Heyduk et al. 2016; Couvreur et al. 2019; Johnson et al. 2019; de La Harpe et al. 2019).

L'analyse en phylogénie moléculaire avec de grande quantité de données est possible avec l'union des deux précédentes techniques et la possibilité offerte par la bio-informatique. Ces dernières années pour l'analyse de ces types de données générées on utilise des pipelines qui génèrent des alignements d'ADN à partir des séquences d'ADN brute (Andermann et al. 2018; Escobar et al. 2021a). L'ensemble de ces techniques a permis de développer un ensemble de baits ou d'appâts spécifiques à certaines familles de plantes comme les palmiers (Heyduk et al. 2016) ou les Annonaceae (Couvreur et al. 2019). Les appâts sont des oligonucléotiques qui permets de récupérer des fragments d'ARN spécifiques ou d'ADN génomiques d'intérêt pour le séquençage. Ces types de marqueurs ont été utilisés pour élucider les relations phylogénétiques inter et intra spécifiques de plusieurs groupes taxonomiques au sein de ces

familles comme par exemple chez les Arecaceae (Heyduk et al. 2016; Loiseau et al. 2019; Helmstetter et al. 2020; Escobar et al. 2019; 2021b) ou les Annonaceae (Dagallier et al. 2020; Brée et al. 2020; Couvreur et al. 2019).

**Problématique, objectif de la thèse et plan des travaux présentés**

Au cours de cette thèse de doctorat nous allons nous concentrer sur la résolution des deux principales questions de recherche suivante, identifier au regard des lacunes des connaissances sur la diversité génétique, l'histoire évolutive et la menace anthropique dont fait l'objet les deux espèces à l'étude (*Borassus aethiopum* et *Raphia vinifera*) :

1- Quel est le modèle phylogéographique des lignées génétiques de *Borassus aethiopum*. Ce modèle reflèterait-il l'impact des changements climatiques passés sur l'expansion des savanes en Afrique de l'Ouest et du Centre ?
2- Quelles sont les conséquences de l'impact anthropique sur la structuration génétique du palmier *Raphia vinifera* ?

En ce qui concerne *Borassus aethiopum*, la réponse à la première question d'étude, nous permettra de fournir d'importantes données génétiques sur cette espèce, de déterminer son niveau de diversité génétique au plan national (Bénin) et la structuration génétique de ses populations au plan régional. Par suite nous allons revisiter les relations phylogénétiques de ce genre de palmier et estimer les temps de divergence des espèces du genre *Borassus*. Ces données seront ensuite utilisées pour construire la phylogéographie de *B. aethiopum* afin de comprendre les mécanismes qui ont influencé sa distribution en Afrique de l'Ouest et du Centre. Ces résultats vont nous permettre d'inférer sur le rôle joué par les changements climatiques passés dans la distribution de cette espèce et celui des espèces de savane de d'Afrique de l'Ouest et du Centre.

Quant au *Raphia vinifera*, les résultats qui découleront de la question de recherche deux, nous permettrons de déduire des conclusions en ce qui concerne l'impact anthropique et ces conséquences sur les populations de cette espèce de *Raphia* dans l'Ouest du Cameroun. L'analyse de la structuration génétique de cette espèce va nous permettre d'identifier spécifiquement l'impact de son exploitation excessive sur son niveau de structuration génétique. Ces résultats constitueront d'importantes connaissances qui contribueront à la mise en place de meilleure stratégie de gestion durable et de protection de cette espèce au Cameroun.

L'objectif général de cette thèse sera donc de comprendre l'impact des changements climatiques et des facteurs anthropiques sur l'histoire évolutive, la diversité génétique et la

structuration génétique de deux espèces de palmiers, afin de contribuer à la mise en place de meilleures stratégies pour leur gestion durable.

Pour répondre efficacement à cet objectif principal, quatre objectifs spécifiques sont définis :

Au niveau de l'organisation de la diversité génétique de l'espèce *Borassus aethiopum* au plan national (Bénin), l'objectif est de :

1- Déterminer le niveau de diversité et la structuration génétiques au sein des populations de *Borassus aethiopum* rencontrées au Bénin. Il s'est agi de produire le premier ensemble de données génétiques fiables exploitables pour l'amélioration de la gestion des ressources génétiques de cette espèce au plan national.

Au niveau inter et intra spécifique sur le modèle *Borassus aethiopum* afin d'en déduire l'impact passé du climat sur l'évolution des lignées génétiques de *B. aethiopum*, l'objectif est de :

2- Déterminer l'origine, l'âge de spéciation, l'espèce soeur de *Borassus aethiopum* et le temps de divergence des espèces du genre *Borassus* à travers une reconstruction de la phylogénie du genre *Borassus.*
3- Elucider l'impact des changements climatiques passés sur l'expansion de *Borassus aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre à travers la reconstruction de l'histoire évolutive des groupes génétiques de cette espèce dans son milieu naturel (savane).

Au niveau de l'impact anthropique, sur le modèle de plante (*Raphia vinifera*), l'objectif est de :

4- Comprende l'impact de la pression anthropique sur la structuration génétique des populations de *R. vinifera* dans la zone Ouest du Cameroun.

Au cours des différents travaux qui découleront de ces objectifs spécifiques, nous allons vérifier les hypothèses suivantes :

H1: le niveau de diversité et de structuration génétique des populations de *Borassus aethiopum* au plan national (Bénin) reflète l'impact anthropique et l'importance de la dispersion des pollens sur le niveau de diversité des espèces végétales.

H2: L'origine de *B. aethiopum* serait vers la fin de l'Oligocène avec une diversification au cours du Miocène pour les espèces du genre *Borassus.*

H3: Au niveau intra spécifique, la distribution des lignées génétiques de *B. aethiopum* serait en lien avec les différentes périodes d'aridification du climat qui ont favorisé

l'expansion des savanes d'Afrique de l'Ouest et du Centre.

H4: La structuration génétique au sein des populations de *Raphia vinifera* à l'Ouest du Cameroun est le résultat d'une forte activité anthropique.

Ces travaux qui relèvent de la génétique des populations, de la phylogénie moléculaire et de la phylogéographie utilisent à la fois des marqueurs moléculaires tels que microsatellites et SNPs ainsi que des séquences nucléaires spécifiques issues de technique de capture de gènes ciblés.

Ce manuscrit de thèse renferme 4 chapitres organisés comme suit :

Chapitre 1: Dans ce chapitre premier, l'inexistence de données génétique et génomique sur le *Borassus aethiopum*, nous a conduit à développer des amorces spécifiques des loci microsatellites identifiés chez *Borassus aethiopum* après une tentative de portabilité de marqueurs microsatellites infructueuse. Ces nouveaux et premiers loci microsatellites spécifiques au *B. aethiopum* ont été utilisés pour caractériser la diversité et la structuration génétique des populations de *B. aethiopum* rencontrées au Bénin.

Chapitre 2 : Nous avons utilisé des techniques de capture de gènes ciblés pour disposer d'un ensemble de gènes nucléaires spécifiques au palmier. Ces gènes ont été utilisés pour reconstruire la phylogénie du genre *Borassus* avec estimation des temps de divergence des espèces de *Borassus* en utilisant des données fossiles. Nous avons déduit l'âge de spéciation de *B. aethiopum* et son espèce sœur.

Chapitre 3: Nous avons estimé à travers une approche phylogéographique utilisant les mêmes types de données de capture de gènes ciblés les temps de divergence des groupes génétiques identifiés chez *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre. Ceci, a permis de comprendre le mécanisme de la distribution des espèces de *B. aethiopum* et en déduire le rôle des changements climatiques passés sur l'évolution de ces populations comparées à celui des savanes qui les abritent.

Chapitre 4 : Ici nous avons utilisé des marqueurs SNPs issus des mêmes types de données de capture de gènes ciblés, pour déterminer la structuration génétique des populations de *R. vinifera* dans l'Ouest du Cameroun et en déduire l'impact anthropique sur cette ressource génétique.

# CHAPITRE I

## Transferability, development of simple sequence repeat (SSR) markers and application to the analysis of genetic diversity and population structure of the African fan palm (*Borassus aethiopum* Mart.) in Benin.

**Mariano Joly Kpaténon**, Valère Kolawolé Salako, Sylvain Santoni, Leila Zekraoui, Muriel Latreille, Christine Tollon-Cordet, Cédric Mariac, Estelle Jaligot, Thierry Beulé, Kifouli Adéoti.

BMC Genetics; 2020 ; 145 ; 1471-2156

https://doi.org/10.1186/s12863-020-00955-y.

Kpatènon *et al. BMC Genetics* (2020) 21:145
https://doi.org/10.1186/s12863-020-00955-y

BMC Genetics

RESEARCH ARTICLE Open Access

# Transferability, development of simple sequence repeat (SSR) markers and application to the analysis of genetic diversity and population structure of the African fan palm (*Borassus aethiopum* Mart.) in Benin

Mariano Joly Kpatènon[1,2,3], Kolawolé Valère Salako[2,4], Sylvain Santoni[5], Leila Zekraoui[3], Muriel Latreille[5], Christine Tollon-Cordet[5], Cédric Mariac[3], Estelle Jaligot[3,6†], Thierry Beulé[3,6†] and Kifouli Adéoti[1,2*†]

**Abstract**

**Background:** In Sub-Saharan Africa, *Borassus aethiopum* Mart. (African fan palm) is an important non-timber forest product-providing palm that faces multiple anthropogenic threats to its genetic diversity. However, this species is so far under-studied, which prevents its sustainable development as a resource. The present work is a first attempt at characterizing the genetic diversity and population structure of *B. aethiopum* across nine collection sites spanning the three climatic regions of Benin, West Africa, through the use of microsatellite markers.

**Results:** During a first phase we relied on the reported transferability of primers developed in other palm species. We find that, in disagreement with previously published results, only 22.5% of the markers tested enable amplification of *B. aethiopum* DNA and polymorphism detection is very low.
In a second phase, we generated a *B. aethiopum*-specific genomic dataset through high-throughput sequencing and used it for the de novo detection of microsatellite loci. Among the primer pairs targeting these, 11 detected polymorphisms and were further used for analyzing genetic diversity. Across the nine sites, expected heterozygosity (He) ranges from 0.263 to 0.451 with an overall average of 0.354, showing a low genetic diversity. Analysis of molecular variance (AMOVA) shows that within-site variation accounts for 53% of the genetic variation. Accordingly, the low number of migrants and positive values of the fixation index (F) in sites from both the Central (Sudano-Guinean) and
(Continued on next page)

* Correspondence: zoulade@yahoo.fr
Estelle Jaligot, Thierry Beulé and Kifouli Adéoti are equal contributors as last authors.
[1]Laboratoire de Microbiologie et de Technologie Alimentaire (LAMITA), Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin
[2]Biodiversité et Ecologie des Plantes (BDEP), Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin
Full list of author information is available at the end of the article

© The Author(s). 2020 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

(Continued from previous page)
the Southern (Guinean) climatic regions suggest limited gene flow between sites. The global correlation between genetic and geographic distances is weak; however, our clustering analyses indicate that *B. aethiopum* palms from Savè (Center) are genetically more similar to those from the North than to samples from other Central sites.

**Conclusions:** In the light of our results, we discuss the use of inter-species transfer vs. de novo development of microsatellite markers in genetic diversity analyses targeting under-studied species, and suggest future applications for our molecular resources. We propose that, while prominent short-range pollen and seed dispersal in Benin explain most of our results, gene flux between the Central and Northern regions, as a result of animal and/or human migrations, might underlie the Savè discrepancy.

**Keywords:** *Borassus aethiopum*, Genetic diversity, Microsatellite, Marker transferability, High-throughput sequencing, Simple sequence repeat, Under-studied species

## Background

Many plant species remain under-studied due to their low economic importance, complicated biology and/or the absence of available genome sequence information. Upon initiating a research project aimed at characterizing the genetic diversity of such a species, researchers may be confronted with the situation that some resources can be found in related taxa. In such cases, the first step is often to assess whether some of these resources, such as molecular markers, can be used to study the new species. Provided that the "source" species display enough genetic similarities to the "target" species and that marker transferability has been previously assessed, this first step may lead to quick progress in a cost-effective manner. Often, transferring markers between species is seen as a smarter investment than developing and testing new markers, especially if limited funding is available [1, 2].

Over the last three decades, molecular markers have been widely used to study genetic variation among and within populations of various plant species [3–7]. Among the different types of markers that are available, microsatellites or simple sequence repeats (SSRs) are often selected due to their high mutation frequency, which ranges from $10^{-2}$ to $10^{-6}$ nucleotides per locus per generation [2, 8] and generates multiple allelic forms, and their co-dominant nature. The combination of both characteristics makes them sensitive tools for the assessment of genetic diversity among species, determination of population structure, phylogenetic reconstruction, genetic mapping, evolutionary analyses, and molecular breeding [9–12]. From a practical perspective, the popularity of SSRs is also related to their low resource requirements (i.e. technical skills, laboratory equipments and consumables) that enable their easy implementation and the reproducibility of results in most research environments [2, 8]. However, the steps leading to the development of functional SSR markers, namely the initial identification of microsatellite loci, primer selection and assessment of amplification/polymorphism detection, require some prior knowledge of the genome of the target species and may prove to be expensive and time-consuming [11, 13]. In order to overcome this difficulty, approaches relying on the transfer of SSR markers between species or genera have therefore been implemented. They have been successful in many instances, as documented across *Prunus* species and among members of the Rosaceae family [14, 15]; between species of the *Hevea* genus and to other Euphorbiaceae [16]; among Lamiaceae [17]; among Legumes belonging to the *Vicia* genus [18] and from the *Phaseolus* genus to *Vigna* [19]. In other cases, the ever-increasing affordability of high-throughput sequencing technologies and the development of dedicated bioinformatics data mining tools have enabled the identification of microsatellite loci and the development of SSR markers, including in non-model plant species with limited or no background genetic information [20–23].

*Borassus aethiopum* Mart., also known as ron palm, toddy palm or African fan palm, is a dioecious species belonging to the Arecaceae family. It is widely distributed across West and Central Africa, where it is present as wild populations [24]. The species is classified as a non-timber forest products (NTFPs)-providing plant, since different parts of the plant are used for various purposes by local populations [24, 25]. In Benin (West Africa) for instance, 121 different uses distributed in seven categories (medicinal, handicrafts, food, construction, firewood, ceremonies and rituals) have been reported for the species [26]. Among these, the consumption of ripe fruits (fresh or roasted) and hypocotyls as food, the use of the weather- and pest-resistant stipe as construction wood and that of leaves and petioles in handicrafts, are the most widespread in local populations [26–28]. These different products are also sold in markets, mostly by women, to whom they provide additional income: it is indeed estimated that in Benin, sales of hypocotyls alone may represent 50% to nearly three times the minimum wage of 40,000 CFA Francs (ca. 61 euros) a month [27].

These multiple uses of products derived from *B. aethiopum* have put a strong anthropogenic pressure on the species, thus contributing to both fragmentations of its populations and their poor natural regeneration [27, 29–32]. Further fragmentation of the species' habitat has been observed as a result of land clearing for agriculture or urban development [32–34]. As illustrated through similar examples in the literature [35, 36], such phenomena may lead to restricted gene flow and ultimately, to loss of genetic diversity among *B. aethiopum* populations. A sustainable management policy for *B. aethiopum* populations is therefore urgently needed and acquiring information on the genetic diversity of the species and population structure is a major step towards defining sustainable management actions. At the time of writing the present article, only a few chloroplast sequences are publicly available for *B. aethiopum* through NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/all/?term=borassus%20aethiopum). By contrast, abundant molecular resources, including genome assemblies or drafts, are available for model palm species such as *Elaeis guineensis* Jacq [37]., *Phoenix dactylifera* L. [38–40] and *Cocos nucifera* L. [41, 42]. In each of these three palm species, large numbers of SSR markers have been identified and for a fraction of them, cross-species and cross-genera transferability tests among species belonging to the Palmaceae family have been performed [43–49]. In several instances [44–47, 49] these tests included samples from *Borassus flabellifer*, the Asian relative of *B. aethiopum*.

The primary objective of the present study is to generate the first set of genetic data on *Borassus aethiopum,* as a first step towards improving the management of this species through a better knowledge of its diversity. In order to achieve this, we first describe attempts to use SSR markers identified in these other palm species. Then, we describe the low-coverage sequencing of the *B. aethiopum* genome with the aim of developing the first set of specific SSR markers targeting this species. Finally, we used the novel SSR markers to assess the genetic diversity and population structure of *B. aethiopum* samples collected across the three different climatic regions of Benin, a country that was most readily accessible to us for sample collection, as an important first step towards more comprehensive studies spanning the West African sub-region.

## Results

### Assessment of palm SSR marker transferability to *Borassus aethiopum* and evaluation of their capacity for characterizing genetic diversity

Of the 80 microsatellite markers selected from the three model palm species *Elaeis guineensis*, *Phoenix dactylifera* and *Cocos nucifera* and tested for amplification on *B. aethiopum* DNA, 18 (22.5%) generate amplification products (Table 1). No amplification is observed using the 11 *C. nucifera* markers, whereas 7 (15.9%) and 11 (44%) of the *P. dactylifera* and *E. guineensis* markers, respectively, show a successful amplification. None of the amplification products generated with *P. dactylifera* primers display genetic polymorphism in our *B. aethiopum* test panel. Among *E. guineensis*-derived SSR markers however, two, namely ESSR566 and ESSR652, display polymorphism. However, it must be noted that depending on the DNA sample the ESSR566 primer pair generates a variable number of amplicons with distinct sizes, which may be an indication that more than one locus is targeted.

Overall, during this phase of the study we detect polymorphism in our *B. aethiopum* test panel with only 2 (11.1% of successfully amplified markers, 2.5% of total) of the palm SSR primer pairs assayed. Only one of these markers, namely ESSR652, enables unambiguous detection of microsatellite locus polymorphism in *B. aethiopum*, and might therefore be used for studying genetic diversity in this species.

### De novo identification of microsatellite sequences in the *B. aethiopum* genome and assessment of potential SSR markers

In order to enable a more precise evaluation of genetic diversity in *B. aethiopum*, we developed specific *B. aethiopum* markers from de novo sequencing data. A total of 23,281,354 raw reads with an average length of 250 bp have been generated from one MiSeq run. Raw sequence reads have been trimmed resulting in 21,636,

**Table 1** Summary of SSR markers transferability assessment

| Species of origin | Number of SSR markers tested | Number of successful amplifications (% of markers) | Number of polymorphic amplicons (% of amplifications) |
|---|---|---|---|
| *Cocos nucifera* | 11 | 0 (0) | 0 (0) |
| *Phoenix dactylifera* | 44 | 7 (15.9) | 0 (0) |
| *Elaeis guineensis* | 25 | 11 (44.0) | 2 (18.2) |
| Total | **80** | **18 (22.5)** | **2 (11.1)** |

172 cleaned-up reads, yielding 493,636 high-quality reads after filtering (Q > 30) from which 216,475 contigs have been assembled.

From the contigs, the QDD software identifies a total of 1618 microsatellite loci (Additional file 1), of which 1327 (82.01%) are perfect (i.e. repeat size 4 bp or smaller and repeat number 10–20). Among the perfect microsatellite loci, 83.86% are composed of di-nucleotidic repeat units, 13.06% of tri-nucleotidic units, 2.39% of tetra-nucleotidic repeats and 0.67% of repeats with five nucleotides and over. From these, we selected SSR markers composed of di- (AG) or tri- nucleotide repeats, using the following criteria for specific amplification of easily scorable bands: primer lengths ranging from 18 to 22 bp, annealing temperatures 55–60 °C, and predicted amplicon sizes 90–200 bp.

The characteristics of the 57 selected primer pairs and the results of the test amplifications are presented in Table 2. Successful amplification of *B. aethiopum* DNA is obtained for 54 (94.7%) primer pairs and of these, 34 (60.0% of amplifying couples) show no polymorphism. The remaining 20 primer pairs enable the amplification of polymorphic products, however nine of them yield complex, ambiguous amplification profiles that prevent their use for reliable detection of genetic variation. As a result, 11 putative *B. aethiopum* SSR markers (representing 20.4% of primer pairs associated with successful amplification and 55.0% of those detecting polymorphic products in our study) are both polymorphic and unambiguously mono-locus in our amplification test panel and may therefore be used for further analyses.

### Microsatellite-based characterization of genetic variation of *B. aethiopum* in Benin

The newly identified set of 11 *B. aethiopum*-specific SSR markers has been used for the characterization of genetic diversity in our full panel of 180 individual samples from nine locations distributed across Benin (Fig. 1).

Map generated from publicly available resources of the Institut Géographique National du Bénin (IGN; https://geobenin.bj/) and the "Major Rivers of the World" dataset from the World Bank Data Catalog (https://datacatalog.worldbank.org/dataset/major-rivers-world; Creative Commons Attribution 4.0 International license), using the ArcGIS software by ESRI (www.esri.com).

As shown in Table 3, among our sample set the number of alleles per microsatellite locus ranges from 2 for marker Mbo41 to 6 for markers Mbo34, Mbo35, and Mbo50, with an average value of 4.27, whereas expected heterozygosity (He) values range from 0.031 (marker Mbo56) to 0.571 (marker Mbo35). Using these markers, the analysis of genetic diversity (Table 4) shows that the number of polymorphic markers detected at the microsatellite loci investigated ranges from 8 (sites of Togbin and Malanville) to 10 (Savè, Agoua, Pendjari, Pingou and Trois Rivières), with a mean value of 9 ± 0.865. With the exception of Savè, Hounviatouin and Malanville, 1 to 3 private alleles of the targeted microsatellite loci are observed in most sampling locations. Regarding the genetic parameters, the number of effective alleles (Ne) ranges from 1.447 to 2.069 with an average number of 1.761. He values range from 0.263 (Hounviatouin) to 0.451 (Savè) with an average value of 0.354 whereas the observed heterozygosity (Ho) varied from 0.234 (Togbin) to 0.405 (Pingou) with an average value of 0.335. Negative values of Fixation index (F) are obtained for Pingou, Malanville and Trois Rivières whereas positive F values, indicating a deficit of heterozygosity, are observed in all other sites investigated.

### Population structure of *B. aethiopum* in Benin

Nei's genetic distance among locations (Table 5) ranges from 0.073, as observed between Togbin and Hounviatouin (Guineo-Congolian region), to 0.577 between Togbin (Guineo-Congolian region) and Trois Rivières (Sudanian region). Overall, genetic distances between *B. aethiopum* sampling locations are lowest within the same region, with the lowest genetic distances among the sites of Pendjari, Pingou, and Trois Rivières which are all located in the Northern part of the country. One interesting exception is the Central (Guineo-Sudanian) region of Benin, where we find that the most genetically distant location from Savè is the one from the Agoua forest reserve (0.339). Surprisingly, Savè displays its highest genetic identity value when compared to the other two collection sites located within protected areas, namely Pendjari (0.870) and Trois Rivières (0.882) which are both located in the Sudanian region. This is an unexpected finding considering the geographic distances involved.

A similar structure of genetic distances emerges from the analysis of pairwise location genetic differentiation (Fst) (Table 6), suggesting genetic differentiation according to geographic distances between collection sites, with the notable exception of the lower genetic differentiation between samples from Savè and those from either one of the forest reserves in the Northern region, namely Pendjari and Trois Rivières.

In order to assess the strength of the relationship between genetic and geographic distances, we plotted them as a linear regression and performed the Mantel permutation test. As shown in Fig. 2, the positive correlation between both variables is weak, but significant ($R^2$ = 0.1139, $P$ = 0.040).

The results of the non-hierarchical AMOVA (Table 7) show that within-site variation underlies the major part (53%) of total variance, whereas among-sites and among-regions variations explain genetic variance to a

**Table 2** List of selected primer pairs targeting putative *B. aethiopum* microsatellite loci and assessment of their polymorphism detection ability

| Locus name | Repeat motif | Primer sequences (5′-3′ orientation) | Expected amplicon size (bp) | Amplification product |
|---|---|---|---|---|
| **MBo01** | $[AGG]_7$ | CCTATCCTTCCATCCCGATCG | 90 | complex, polymorphic |
| | | TTGCCGTGAATCAGCCTCAA | | |
| **MBo02** | $[ATC]_7$ | GGGAGAACAAGGATAACAGCAG | 115 | single locus, monomorphic |
| | | TCCATTTCATCACTAGCTCGGT | | |
| **MBo03** | $[AGG]_7$ | CTCCGAGCCCTAGCAACTTT | 131 | single locus, monomorphic |
| | | TCTGGATGACGAAACCTTCACA | | |
| **MBo04** | $[ACC]_7$ | GATGTGGCCGCTCTGATCTC | 192 | single locus, monomorphic |
| | | ACATGCTGGCAAGGTATTCT | | |
| **MBo05** | $[AAG]_7$ | GTCCTAGCACGCTGGCATTA | 202 | single locus, monomorphic |
| | | TGGGTTGCCAATGAACCCTT | | |
| **MBo06** | $[ATC]_7$ | TGGCCATTCAACTGCTTCAC | 202 | single locus, monomorphic |
| | | GAATCTAGCACCAGCAAACCC | | |
| **MBo07** | $[AAG]_7$ | GGCACTGGAGTCCACATCAA | 239 | single locus, monomorphic |
| | | TCCTTCTGTACTGGCATCTCT | | |
| **MBo08** | $[AGG]_8$ | TGATTGTTTCCTCTTCCCTCCT | 90 | single locus, monomorphic |
| | | TTAATGAGCCGAAGAGGAGCC | | |
| **MBo09** | $[AGG]_8$ | TCCCTCACTCCCATCCTCTC | 163 | single locus, monomorphic |
| | | ACTCCACTCCTTCCCTCATACA | | |
| **MBo10** | $[AAC]_8$ | GTTAAAGACGCAGGGCTGGA | 166 | single locus, monomorphic |
| | | CCCACTTAGTGAGATAAGACTTGA | | |
| **MBo11** | $[ATC]_8$ | GCATCACATGGTTTCAGGCT | 219 | single locus, monomorphic |
| | | GCTCAACCATCGGCAGTGTA | | |
| **MBo12** | $[ATC]_9$ | GGAGGAAAGGTTGCCCTAGAA | 102 | single locus, monomorphic |
| | | TCTCAACCTGATGTCATTGCA | | |
| **MBo13** | $[AAG]_9$ | CAGGTTGCATCGGCCCATT | 103 | complex, polymorphic |
| | | GGAGCCTAATGCACCCAGAG | | |
| **MBo14** | $[AAC]_9$ | ATGGCCGATCCCACTTAGTG | 117 | single locus, monomorphic |
| | | GAGAGAACGGCAATAATTTATGCA | | |
| **MBo15** | $[AAG]_{10}$ | GCTGAAGAGGATGAAGAAGAAGC | 92 | complex, monomorphic |
| | | TCATCATCTCCCTCTCCTTCT | | |
| **MBo16** | $[AGG]_{10}$ | CAGCACTGGCCTCACAGC | 118 | single locus, monomorphic |
| | | CCGTCGATCAGTTGTTGGAGA | | |
| **MBo17** | $[ATC]_{10}$ | ACACAATGACCTTTCGCTGA | 124 | single locus, monomorphic |
| | | CCAAACAGGACCTTATGCCA | | |
| **MBo18** | $[AAG]_{10}$ | ACATCCTCTCCTTCATCTCCTT | 187 | complex, polymorphic |
| | | GTTCCTACAATGCTTGGCGC | | |
| **MBo19** | $[AAG]_{10}$ | TGCTATCACCCAATATCTAGGCT | 202 | single locus, monomorphic |
| | | ACAGTCAACAACTACCATACTGC | | |
| **MBo20** | $[AAG]_{10}$ | TGTGGTTAAAGCAATGGAAGCA | 229 | single locus, monomorphic |
| | | GCCGAACTCCTACTCTCATACG | | |
| **MBo21** | $[AAG]_{11}$ | ACAACAGAAGATCAGTATACGTTCT | 171 | single locus, monomorphic |
| | | TTGAGGAATCATGCTTGTCAGT | | |
| **MBo22** | $[AAG]_{14}$ | AGAAGAATTCGGTTAGGTCACAA | 108 | single locus, monomorphic |

**Table 2** List of selected primer pairs targeting putative *B. aethiopum* microsatellite loci and assessment of their polymorphism detection ability *(Continued)*

| Locus name | Repeat motif | Primer sequences (5′-3′ orientation) | Expected amplicon size (bp) | Amplification product |
|---|---|---|---|---|
| | | AGATAACATGGGTAAGAATTGCCT | | |
| **MBo23** | $[AAT]_5$ | TGAGTTCTTGTCTTGTCTTCGT | 100 | single locus, monomorphic |
| | | GGTTTGGGACACCCTTCAGG | | |
| **MBo24** | $[AAT]_9$ | AAAGTCATGTCTGGGTGATGAA | 90 | single locus, monomorphic |
| | | ATGATGAGCACAGCTACAACTCT | | |
| **MBo25** | $[AAT]_6$ | TCTTCAGGTGACAAGCAACA | 96 | single locus, monomorphic |
| | | CCTGGGCATGGAGATAGCAT | | |
| **MBo26** | $[AAT]_7$ | CCATAGGCCAGCCCACTATA | 134 | single locus, monomorphic |
| | | ACCCTTTCTTCTTCCTCATTTGT | | |
| **MBo27** | $[AAT]_7$ | TCTCTATTGCTTGGTGATCCC | 103 | single locus, monomorphic |
| | | TCCAACAAGGGATGGTTATCATG | | |
| **MBo28** | $[AAT]_8$ | GCCTTGAGAGTGGAAGAGGC | 205 | single locus, monomorphic |
| | | TCTCTTCTTTGCGCCCTCAT | | |
| **MBo29** | $[AAT]_{16}$ | AGACATGTAGAGGTGGGACT | 211 | single locus, monomorphic |
| | | TCTGTATGAGAGACGTGTTACAGT | | |
| **MBo30** | $[AAT]_8$ | TGACCATAACAAGCTACCAGGT | 146 | single locus, monomorphic |
| | | GGTGGAAGCTATTGATATTGCATGT | | |
| **MBo31** | $[AAT]_{10}$ | TGACAATGATGCATGCGATAACA | 187 | single locus, monomorphic |
| | | GCATCACCCATGTCCTTTAGC | | |
| **MBo32** | $[AAT]_{10}$ | TCCGAGGGCAGTATTTGTCG | 117 | single locus, monomorphic |
| | | CACTATTTCGGAAACCTAAGCCC | | |
| **MBo33** | $[AAT]_{17}$ | GCACACTTTGTATCCGACGC | 147 | single locus, monomorphic |
| | | CAGGGATAGTAACCGTCAGGG | | |
| **MBo34*** | $[AG]_{28}$ | GTGGCACCTCTGCGGTTT | 192 | single locus, polymorphic |
| | | CGAGATGGAAGCACCTGGAG | | |
| **MBo35*** | $[AG]_{24}$ | AGCATGCTTTCTGCTTCATGTG | 137 | single locus, polymorphic |
| | | CCTTTCCCTGACTGCATTGC | | |
| **MBo36** | $[AG]_{23}$ | TCGGAAGTCGAATGTGGCAG | 180 | no amplification |
| | | TCGGAAGAGTGGTCAATCATGG | | |
| **MBo37** | $[AG]_{23}$ | GCTCTACTCCCAGAGACGGA | 142 | complex, polymorphic |
| | | AACAGTCGACGGAATGCTCA | | |
| **MBo38*** | $[AG]_{20}$ | AGTCCTCACTGCTGGTGGTA | 130 | single locus, polymorphic |
| | | TCCTTGAATAGTCCATCTTGCA | | |
| **MBo39** | $[AG]_{19}$ | AACGCAGGTTAAGAGGCTCC | 168 | complex, monomorphic |
| | | CCTCCTGGTGCAACCCTTAC | | |
| **MBo40** | $[AG]_{19}$ | TGTGGAGTGTGAGTCGATGG | 193 | complex, polymorphic |
| | | GGCTGCATAATCTCATCACGC | | |
| **MBo41*** | $[AG]_{18}$ | TTCTCCACCAGCCTCACAAC | 184 | single locus, polymorphic |
| | | ATACGGCCCATCAACCCTTC | | |
| **MBo42** | $[AG]_{18}$ | CCTGGTGGTACATGTGGTCA | 136 | complex, polymorphic |
| | | TGTGGCACATTCATTTCTGAAGG | | |
| **MBo43** | $[AG]_{18}$ | AGTTTGTTCTGTGTGTTGTCAC | 137 | no amplification |
| | | GCACACATCTTGCTTTGAAGAC | | |

**Table 2** List of selected primer pairs targeting putative *B. aethiopum* microsatellite loci and assessment of their polymorphism detection ability *(Continued)*

| Locus name | Repeat motif | Primer sequences (5′-3′ orientation) | Expected amplicon size (bp) | Amplification product |
|---|---|---|---|---|
| **MBo44** | $[AG]_{17}$ | AACACACTTTAAATCGACTTCTTCA | 193 | complex, polymorphic |
| | | CACGGCTGCCATGTGAGG | | |
| **MBo45** | $[AG]_{17}$ | TAGATCGGAAGTCAGGCCC | 193 | no amplification |
| | | AGAGAAGTGGGAGGAGAGGTC | | |
| **MBo46** | $[AG]_{17}$ | GCCGATATTAGCTTCTTCTTGGC | 154 | single locus, monomorphic |
| | | GCCTTGTTGATCCCGTTTCAC | | |
| **MBo47** | $[AG]_{16}$ | GGCACCTGACGCCTCTTT | 188 | single locus, monomorphic |
| | | TCACTTCGACTCAATTGTATCCAT | | |
| **MBo48** | $[AG]_{16}$ | AGGACAAAGAGATGAGAAGCCT | 92 | complex, polymorphic |
| | | ACCAATTCCCAGTTAGTTGACCA | | |
| **MBo49*** | $[AG]_{16}$ | CATCACCCATTCTCTCTGCCT | 141 | single locus, polymorphic |
| | | GAGAAACCATCCGCACCTCA | | |
| **MBo50*** | $[AG]_{15}$ | AGAAGTCATCTTGAGGGCCC | 150 | single locus, polymorphic |
| | | TTGCTAGAATGATACACAAATTGCT | | |
| **MBo51*** | $[AG]_{15}$ | TGTGCTATTTGTTGGGAATGCA | 191 | single locus, polymorphic |
| | | GCAAGCTCATGTTCTAGTTTCAAGT | | |
| **MBo52*** | $[AG]_{15}$ | ACACATCCTACATGAATAGACCTCC | 122 | single locus, polymorphic |
| | | TCTTGTCATAGCCTAGATTCCCT | | |
| **MBo53** | $[AG]_{15}$ | AGGTTTAAGGGTTTGGGTTAGGG | 131 | single locus, monomorphic |
| | | GGTGGAGTAAGTTTGAGGGTCA | | |
| **MBo54*** | $[AG]_{11}NNN[AG]_{15}$ | CATATGCTGATACAAGAGAGAGGG | 124 | single locus, polymorphic |
| | | ACCTTATAAGCAGGATCCAGACA | | |
| **MBo55** | $[AG]_{15}$ | TGGAATCAACCTTGGGTCTACA | 198 | complex, polymorphic |
| | | TCGTCGGTCTTCTAGCCACT | | |
| **MBo56*** | $[AG]_{15}$ | ACCAAGATCAAGCACGAGGA | 103 | single locus, polymorphic |
| | | AGGATCACCCTTTCTTTCTTTCT | | |
| **MBo57*** | $[AG]_{15}$ | GGGTTCAATCCTGATGAGAGCA | 136 | single locus, polymorphic |
| | | ACCGTTCGATCAACCATGGT | | |

Loci for which single-locus SSR polymorphism has been detected within our test panel of seven *B. aethiopum* individuals are signaled by an asterisk (*)
Conventionally, microsatellite motifs are displayed under the form $[N_1N_2]_x$ or $[N_1N_2N_3]_x$ for dinucleotide and trinucleotide loci, respectively, where $N_1$, $N_2$ and $N_3$ represent nucleotides included in the elementary unit of the motif and x is the number of unit repetitions. Expected amplicon size is as predicted by QDD

similar extent (23 and 24%, respectively). Accordingly, the average Number of migrants between collection sites (Nm = 1.019) is low, indicating very limited gene flow.

Hierarchical analyses performed with K = 2 and K = 3, respectively, yield an identical proportion of genetic variation at the within-individual level (62% of total; Table 7). Analysis using K = 3 allows for a balanced representation of variation between the among-regions and among-sites scales (16% of total variance for each), whereas among-regions variation is not as well accounted for under K = 2 (7% of total variance, vs. 24% for among-sites variation).

The Principal Coordinates Analysis (PCoA) of 180 *B. aethiopum* samples (Fig. 3a) shows that the first axis (accounting for 24% of total variation out of a sum of 33.90 for axes 1 and 2) roughly separates individual samples in two main groups, a result that is in agreement with the analysis of genetic distances. The sampling locations-based PCoA (Fig. 3b) confirms the genetic separation along the first axis (accounting for 44.08% of total variation over a total of 61.06% for the sum for axes 1 and 2) between sites from the Guineo-Congolian (Southern) region, plus the sites of Agoua and Biguina (Center) vs. sites from the Sudanian (Northern) region, plus the site of Savè (Center). Although the distinction is not as clearly marked, the second axis (accounting for 16.98% of total variation) further allows to distinguish two subgroups within the first group, corresponding to sites belonging to the Southern region and to those from the Central one, respectively.

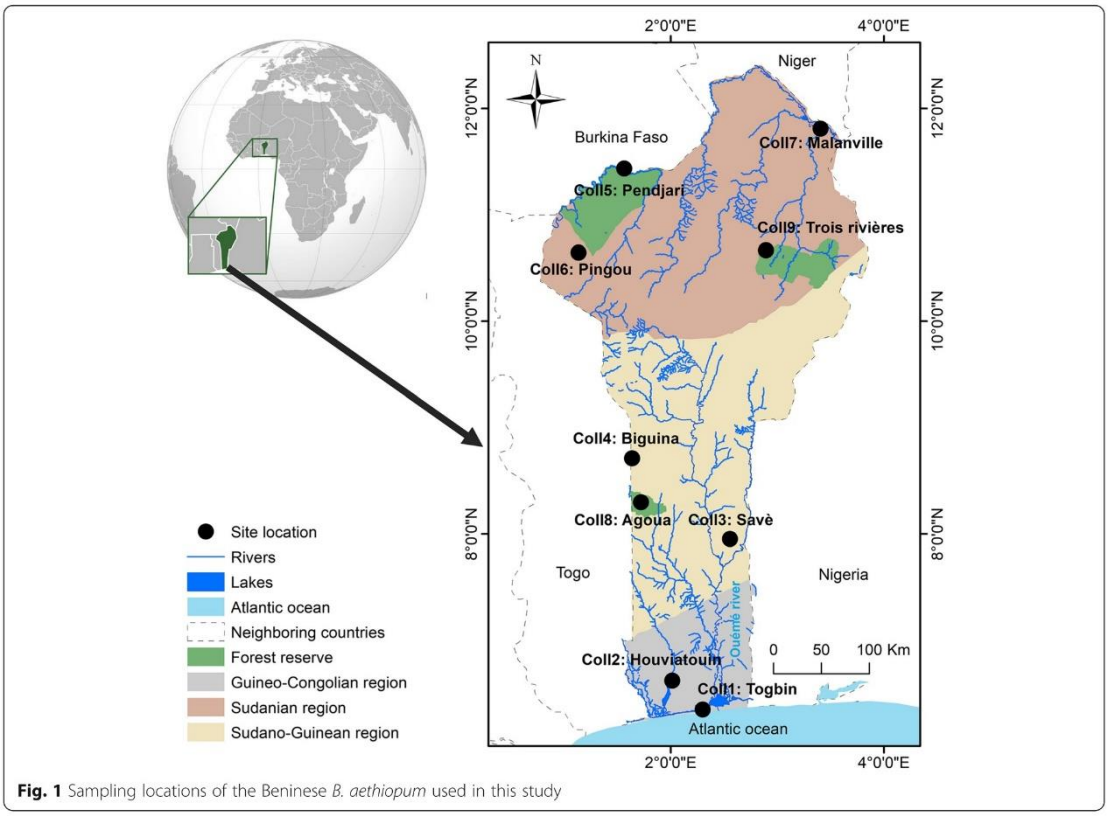


**Fig. 1** Sampling locations of the Beninese *B. aethiopum* used in this study

Likewise, the Bayesian analysis of our data indicates an optimal value of K = 2 for the clustering of the samples into two groups (Fig. 4a and b): one group that includes samples from Togbin and Hounviatouin in the Southern part of the country, as well as most samples from Biguina and Agoua at the Western (Togolese) border of the Center region; and one group composed of the majority of samples collected in Savè (Eastern part of the Center region) and from the Northern locations of Pendjari, Pingou, Malanville, and Trois Rivières. Since

**Table 3** Characteristics of 11 newly identified polymorphic microsatellites markers used for genetic diversity analysis of *B. aethiopum*

| Locus name | Number of alleles scored/locus | Expected Heterozygosity (He) | Observed Heterozygosity (Ho) |
|---|---|---|---|
| **Mbo34** | 6 | 0.520 | 0.383 |
| **Mbo35** | 6 | 0.571 | 0.522 |
| **Mbo38** | 5 | 0.458 | 0.513 |
| **Mbo41** | 2 | 0.343 | 0.356 |
| **Mbo49** | 4 | 0.167 | 0.146 |
| **Mbo50** | 6 | 0.548 | 0.542 |
| **Mbo51** | 3 | 0.320 | 0.304 |
| **Mbo52** | 3 | 0.201 | 0.232 |
| **Mbo54** | 4 | 0.26 | 0.435 |
| **Mbo56** | 3 | 0.031 | 0.034 |
| **Mbo57** | 5 | 0.296 | 0.263 |

**Table 4** Mean diversity parameters for each of the nine *B. aethiopum* sampling sites

| Geo-climatic region | Site | Nb of polymorphic markers | Na | Ne | Nb of private alleles | Allelic richness | Ho | He | F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Guineo-Congolian (South) | *Togbin* | 8 | 2.273 | 1.584 | 3 | 2.08 | 0.234 ± 0.063 | 0.288 ± 0.073 | 0.145 ± 0.066 |
| | *Hounviatouin* | 9 | 2.182 | 1.447 | 0 | 2.1 | 0.272 ± 0.066 | 0.263 ± 0.054 | 0.007 ± 0.094 |
| Sudano-Guinean (Center) | *Savè* | 10 | 2.909 | 2.069 | 0 | 2.72 | 0.384 ± 0.075 | 0.451 ± 0.066 | 0.134 ± 0.088 |
| | *Biguina* | 9 | 2.364 | 1.770 | 2 | 2.21 | 0.345 ± 0.069 | 0.374 ± 0.070 | 0.064 ± 0.062 |
| | *Agoua* | 10 | 2.273 | 1.722 | 1 | 2.16 | 0.329 ± 0.063 | 0.358 ± 0.066 | 0.059 ± 0.071 |
| Sudanian (North) | *Pendjari* | 10 | 2.818 | 1.900 | 3 | 2.49 | 0.368 ± 0.070 | 0.396 ± 0.071 | 0.055 ± 0.064 |
| | *Pingou* | 10 | 2.364 | 1.906 | 1 | 2.29 | 0.405 ± 0.072 | 0.390 ± 0.073 | 0.063 ± 0.049 |
| | *Malanville* | 8 | 2.455 | 1.627 | 0 | 2.2 | 0.302 ± 0.072 | 0.303 ± 0.074 | 0.020 ± 0.051 |
| | *Trois Rivières* | 10 | 2.545 | 1.822 | 2 | 2.43 | 0.373 ± 0.074 | 0.360 ± 0.073 | 0.055 ± 0.039 |
| | **Overall mean** | **9 ± 0.865** | **2.465 ± 0.103** | **1.761 ± 0.065** | | | **0.335 ± 0.023** | **0.354 ± 0.023** | **0.035 ± 0.022** |

Values are provided ± standard deviation wherever applicable
*Na* average number of different alleles, *Ne* effective number of alleles, *Ho* Observed Heterozygosity, *He* Expected Heterozygosity, *F* Fixation index

there is a possibility that the ΔK method used for estimating K leads to over- or under-estimated values [50], clustering with higher values of K have also been tested. As is apparent in Fig. 4b, for values of K = 4 and above standard deviations increase considerably, therefore we present results for both K = 2 and K = 3 (Fig. 4c; see also Additional Figure 4 for the summary of the complete analyses with K = 1 to K = 10). As previously observed with the location-based PCoA, under K = 3 further clustering emerges within the first group, involving samples from Togbin and Hounviatouin (South) and those from Biguina and Agoua (Center), respectively.

The Unweighted pair-group method with arithmetic mean (UPGMA) tree constructed from our data (Fig. 5) distinguishes two main groups matching the ones defined through the Bayesian analysis with K = 2, and which are supported by bootstrap values above 50. Within each of these groups, subgroups corresponding to those observed with K = 3 clustering and that globally match geo-climatic regions (Savè excepted) can further be defined. However, in this case most bootstrap values attached to these secondary branches are not significant.

## Discussion

In flowering plant, the efficiency of cross-species transfer of SSR markers is highly variable among taxa, especially when important differences in genome complexity exist between the marker source and the target [51]. Nevertheless, this method has been used successfully for accelerating the analysis of genetic diversity in many plant species, including palms [11, 52–54]. In the present study, we find that the transferability rate of microsatellite markers developed in other palms genera to *Borassus aethiopum*, i.e. their ability to successfully amplify genomic DNA from the latter species, is very low. Indeed, among the 80 primer pairs designed on either *Elaeis guineensis*, *Phoenix dactylifera* or *Cocos nucifera*, we observe that only 18 (22.5%) produce amplicons from *B. aethiopum*. This percentage is very low when compared to both the inter-species and inter-genera transferability

**Table 5** Pairwise location matrix of Nei's genetic distance and genetic identity values

| | Togbin | Hounviatouin | Savè | Biguina | Agoua | Pendjari | Pingou | Malanville | Trois Rivières |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Togbin | – | 0.073 | 0.477 | 0.253 | 0.337 | 0.517 | 0.494 | 0.487 | 0.577 |
| Hounviatouin | 0.929 | – | 0.419 | 0.110 | 0.215 | 0.435 | 0.317 | 0.375 | 0.535 |
| Savè | 0.621 | 0.658 | – | 0.270 | 0.339 | 0.140 | 0.265 | 0.238 | 0.126 |
| Biguina | 0.776 | 0.896 | 0.763 | – | 0.152 | 0.241 | 0.161 | 0.186 | 0.316 |
| Agoua | 0.714 | 0.806 | 0.713 | 0.859 | – | 0.408 | 0.304 | 0.359 | 0.490 |
| Pendjari | 0.596 | 0.647 | 0.870 | 0.786 | 0.665 | – | 0.167 | 0.108 | 0.103 |
| Pingou | 0.610 | 0.728 | 0.767 | 0.851 | 0.738 | 0.846 | – | 0.174 | 0.175 |
| Malanville | 0.614 | 0.688 | 0.788 | 0.831 | 0.699 | 0.898 | 0.841 | – | 0.145 |
| Trois Rivières | 0.561 | 0.585 | 0.882 | 0.729 | 0.613 | 0.902 | 0.840 | 0.865 | – |

Above the diagonal: Nei's genetic distance; below: genetic identity

**Table 6** Pairwise sampling locations Fst value

| | Togbin | Hounviatouin | Savè | Biguina | Agoua | Pendjari | Pingou | Malanville | Trois Rivières |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Togbin | 0.000 | | | | | | | | |
| Hounviatouin | 0.072 | 0.000 | | | | | | | |
| Savè | 0.233 | 0.221 | 0.000 | | | | | | |
| Biguina | 0.168 | 0.086 | 0.145 | 0.000 | | | | | |
| Agoua | 0.215 | 0.153 | 0.157 | 0.105 | 0.000 | | | | |
| Pendjari | 0.247 | 0.212 | 0.077 | 0.120 | 0.188 | 0.000 | | | |
| Pingou | 0.252 | 0.181 | 0.138 | 0.103 | 0.169 | 0.100 | 0.000 | | |
| Malanville | 0.301 | 0.246 | 0.149 | 0.121 | 0.197 | 0.072 | 0.119 | 0.000 | |
| Trois Rivières | 0.285 | 0.279 | 0.076 | 0.178 | 0.224 | 0.073 | 0.104 | 0.107 | 0.000 |

rates that have been found in similar studies targeting other palm species: from 17 to 93% in a panel of 32 palm species [49], 75% from *E. oleifera* to *E. guineensis* [54], 86% between the wooly jelly palm (*Butia eriospatha* Mart.) and related species *Butia catarinensis* [55] and up to 100% in the licuri palm (*Syagrus coronate* Mart) [56]. When considering other plant families, our transferability rate is also markedly lower than both the average rate of 50% found by Peakall et al. [57] within the *Glycine* genus and among Legumes genera, and the overall rate of 35.2% calculated by Rossetto [58] for within-family transferability among Gymnosperms and Angiosperms. The low transferability rate in our study might be explained in part by the fact that we used markers originating from genomic sequences. Indeed, as pointed out by Fan et al. [1], such markers have a lower transferability rate when compared to Expressed Sequence Tags (ESTs)-derived microsatellites due to the higher inter-species sequence variability within non-coding vs. coding sequences. Similarly, it is plausible that differences in genome size and complexity among palm species and genera account for our difficulty to identify palm SSR markers that successfully amplify in *B. aethiopum*. As a matter of fact, the size of the *B. aethiopum* genome, as determined by flow cytometry (1C = 7.73 Gb; Jaume Pellicer, unpublished data), is 3.2 to 11.5 times larger than those of the microsatellite source species used in the present study: *P. dactylifera* genome is estimated to be 671 Mb [39] whereas the *E. guineensis* genome is 1.8–1.9 Gb [37, 59] and *C. nucifera* genome is 2.42 Gb [42]. It is possible that these differences in genome sizes among related diploid plant species rely on

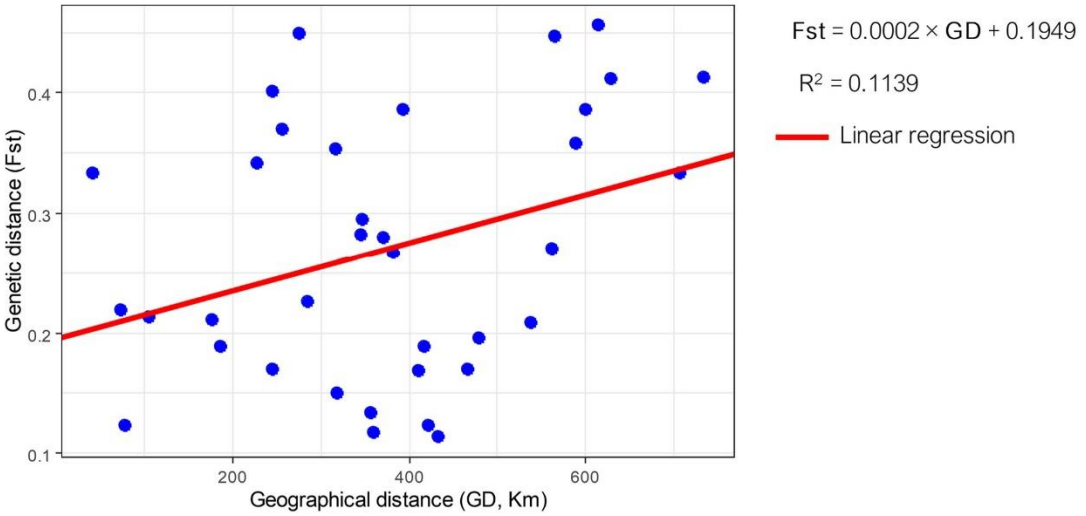


**Fig. 2** Correlation between pairwise Fst vs. pairwise geographical distance

**Table 7** AMOVA results

| Analysis | Scale | df | SS | MS | Est. var. | % Total variance | *P* value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Non-hierarchical AMOVA | Among regions | 2 | 309.407 | 154.704 | 1.944 | 24% | < 0.001 |
| | Among sites | 6 | 254.302 | 42.384 | 1.903 | 23% | < 0.001 |
| | Within sites | 171 | 739.100 | 4.322 | 4.322 | 53% | < 0.001 |
| | *Total* | *179* | *1302.809* | | *8.169* | *100%* | |
| Hierarchical AMOVA, K = 2 | Among regions | 1 | 66.765 | 66.765 | 0.205 | 7% | |
| | Among sites | 7 | 212.421 | 30.346 | 0.703 | 24% | |
| | Among individuals | 171 | 379.675 | 2.220 | 0.195 | 7% | |
| | Within individuals | 180 | 329.500 | 1.831 | 1.831 | 62% | |
| | *Total* | *359* | *988.361* | | *2.933* | *100%* | |
| | ***F-statistics*** | ***Value*** | ***P-value*** | | | | |
| | Fst | 0.310 | 0.010 | | | | |
| | Fis | 0.096 | 0.010 | | | | |
| | Fit | 0.376 | 0.010 | | | | |
| Hierarchical AMOVA, K = 3 | Among regions | 2 | 152.676 | 76.338 | 0.478 | 16% | |
| | Among sites | 6 | 126.510 | 21.085 | 0.472 | 16% | |
| | Among individuals | 171 | 379.675 | 2.220 | 0.195 | 7% | |
| | Within individuals | 180 | 329.500 | 1.831 | 1.831 | 62% | |
| | *Total* | *359* | *988.361* | | *2.975* | *100%* | |
| | ***F-statistics*** | ***Value*** | ***P-value*** | | | | |
| | Fst | 0.319 | 0.010 | | | | |
| | Fis | 0.096 | 0.010 | | | | |
| | Fit | 0.385 | 0.010 | | | | |

*df* degree of freedom, *SS* sum of squares, *MS* mean squares, *Est. var.* estimated variance, *Fst* inter-sites genetic differentiation, *Fis* genetic differentiation of individuals within sites, *Fit* differentiation of individuals from the total

differences in transposable element (TE) content, which in turn might have induced structural alterations throughout the genome through indels, copy number variations and recombinations [60, 61]. The illustration of such a mechanism working at the intra-genus level has been provided by cultivated rice species *Oryza sativa* L. and its wild relative *Oryza australiensis* [60]. Ultimately, TE-induced structural variations may have a negative effect on the cross-species amplification ability of some of the SSR primers. Indeed, in a recent study Xiao et al. [49] showed that over 70% of the conserved microsatellite loci between *E. guineensis* and *P. dactylifera* are located within genic regions of the genome with low TE content, and which are therefore less likely to be submitted to TE-dependent structural variations. More generally, gaining a better understanding of genome structures within the *Borassus* genus could also help reconcile our results with previous published reports of successful transfer of SSR markers developed from other palm sources to *Borassus flabellifer* (see references cited in Table 8, Methods section). Indeed, since the genome size of *B. flabellifer* (7.58 Gb; Jaume Pellicer, unpublished data) is only marginally smaller than that of *B. aethiopum*, significant differences in genome composition may be underlying the lack of SSR transferability between both species.

In any case, from the low number of successfully transferred microsatellite markers we could only identify one displaying polymorphism in our *B. aethiopum* test panel, making it impossible to rely on for analysis of genetic diversity. Still, the fact that so little microsatellite polymorphism (2 out of 18 amplifying primer pairs: 11.1%) could be detected in this subset of 20 palms sampled across different locations throughout Benin is somewhat surprising and its reasons remain to be elucidated. In addition to possibly being a symptom of habitat fragmentation, this low diversity might also result from the extremely long juvenile phase that has been attributed to this palm species. Indeed, floral maturity has been reported to occur 30 to 50 years after germination [68]. The manner of seed and pollen dispersal, which have so far not been studied extensively in *B. aethiopum*, might also play a role. Indeed, in pollen-mediated gene flow species, the distance the pollen travel is of importance in the occurrence of crossing between populations [69, 70].

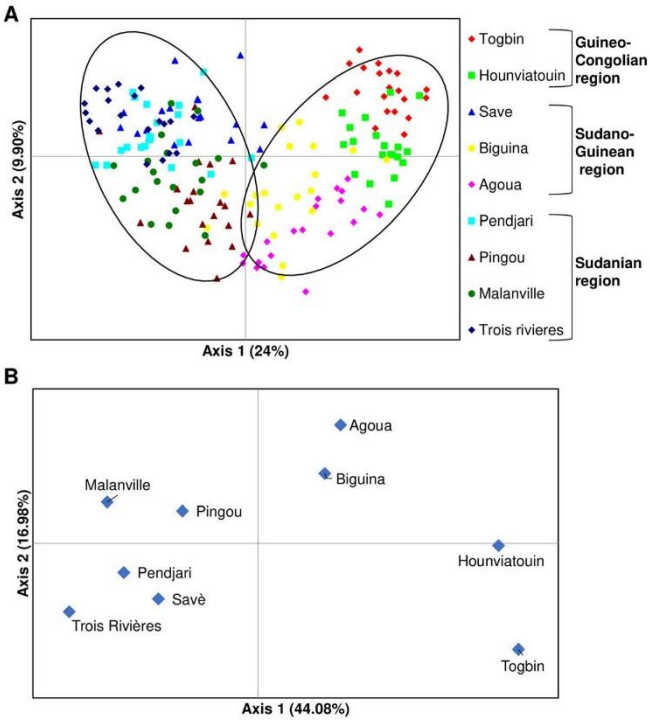


**Fig. 3** Principal Coordinates Analysis (PCoA). **a** PCoA analysis of individual *B. aethiopum* samples. **b** Sampling locations-based PCoA

Regarding the development of novel SSR markers, our results are similar to other studies based on the use of high-throughput sequencing techniques in species where very little information is available [22, 71]. We identified 57 microsatellite loci, from which we selected 11 markers displaying polymorphism that were used to assess the genetic structure of *B. aethiopum* sampled from different sites in Benin. We find low genetic diversity, with an average He value (0.354) that is substantially below those reported for *B. flabellifer* (0.417) [45] and for other non-timber forest products such as *Khaya senegalensis* (0.53) [72] and *Phyllanthus sp.* (0.607 and 0.582 for *Phyllanthus emblica* and *Phyllanthus indofischeri* respectively [73]. The positive F value that we observed in the majority (6 out of 9) of locations in the present study indicates an overall deficiency of heterozygotes across sites. This deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) might reflect low gene flow through pollen and seed dissemination, leading to crosses between related individuals, as supported by the low average number of migrants between sites. Accordingly, our data reveal limited genetic distances among collection sites, with values that are lower than those reported for others palm species. Indeed for *B. flabellifer*, genetic distances ranged from 0.716 to 0.957 [74] and among natural *E. guineensis* accessions an average of 0.769 was observed [75]. Both our Fst values and AMOVA analysis point to intra-site differentiation as being the main source of genetic variation.

As illustrated by the global agreement between our PCoA and Bayesian analyses, Beninese *B. aethiopum* samples cluster into two main groups that are mostly dependent on geo-climatic regions and geographic distances between collection sites, although the correlation between genetic and geographic distance is poorly significant. There might be further genetic separation between Southern *B. aethiopum* samples and those from the Central sites of Agoua and Biguina, resulting in the splitting of one group into two subgroups. However, with our current dataset it is not possible to achieve this level of discrimination in our analyses. Additional sampling campaigns from intermediate locations in the Central and Northern regions will be necessary in order to make progress on the subject.

Among the nine locations studied in Benin, samples from Savè appear to be the most diversified (He = 0.451)

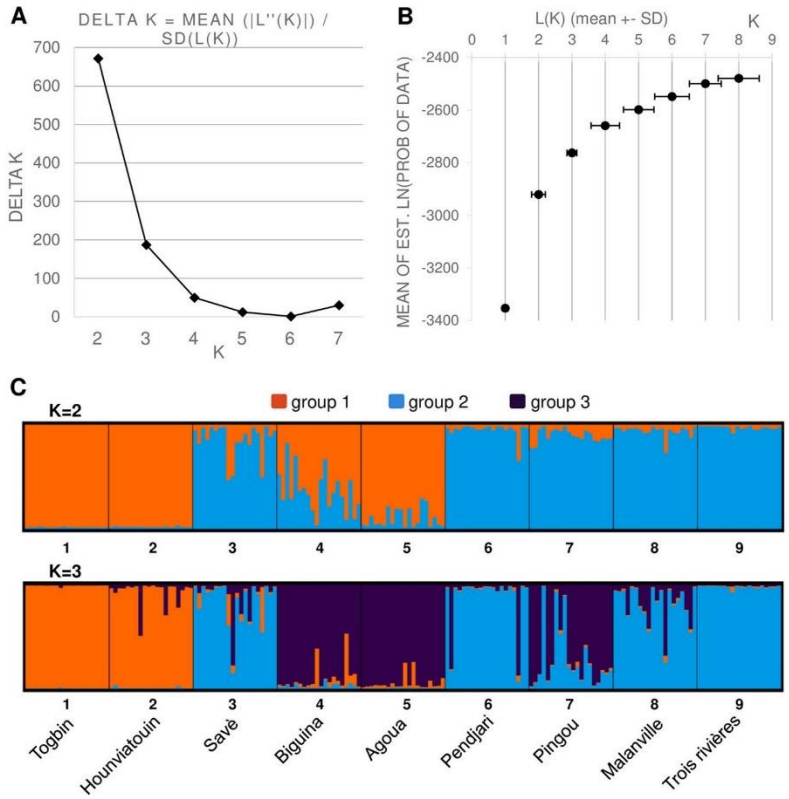


**Fig. 4** Bayesian cluster analysis. **a** Determination of the optimal value of K from Structure Harvester. **b** Evanno plot. **c** Bar plot representations of Bayesian STRUCTURE analysis of Beninese *B. aethiopum* samples with K = 2 (top) or with K = 3 (bottom) generated with CLUMPAK. Sampling sites are displayed along the horizontal axis

and constitute the exception to the general distribution according to geographical distances. This site located in the Sudano-Guinean transition zone of Benin is currently the most active for the production of *B. aethiopum* hypocotyls, and it acts as a supplier for the whole national territory ([76]; V.K. Salako, personal communication), suggesting that it might be the largest population of *B. aethiopum* in the country. Moreover, individuals sampled in Savè appear to be genetically distinct from those sampled in other locations of the Central region and closer to those originating from the Northern region, despite the considerable geographical distances involved in the latter case. A part of the explanation for the genetic distance observed between the Western (i.e. Biguina and Agoua) and the Eastern (Savè) collection sites within the Central region may reside in their physical separation by the Ouémé river, which further forms a natural corridor between Savè and the sites of Trois Rivières and Malanville in the North-East (see Fig. 1) [77]. We postulate that seed dispersal by humans and/or animals along this corridor might have played a major role in the observed pattern of genetic diversity and explain the singularity observed in Savè. As a matter of fact, members of the Bariba ethnic group, who live in the Eastern part of the country up to Malanville, share strong historical ties with the Shabè people from Savè, and exchanges between both groups are frequent [78]. The same corridor is also used annually for transhumance by the Fulani people [79], for whom *B. aethiopum* is an important plant: the role of their mobility in the dispersal of the plant, similar to what has been proposed for *Caesalpina bonduc* [80], is therefore plausible. Regarding the impact of animal migrations, Salako et al. [31, 32] detected the presence of *B. aethiopum* seeds in elephant dungs and hypothesized that elephants may have played important role in the seed dissemination for this species through fruit consumption and long-distance herd migrations. In support to this assumption, Savè is part of a continuous forest corridor connecting with the Northern region that was likely used by

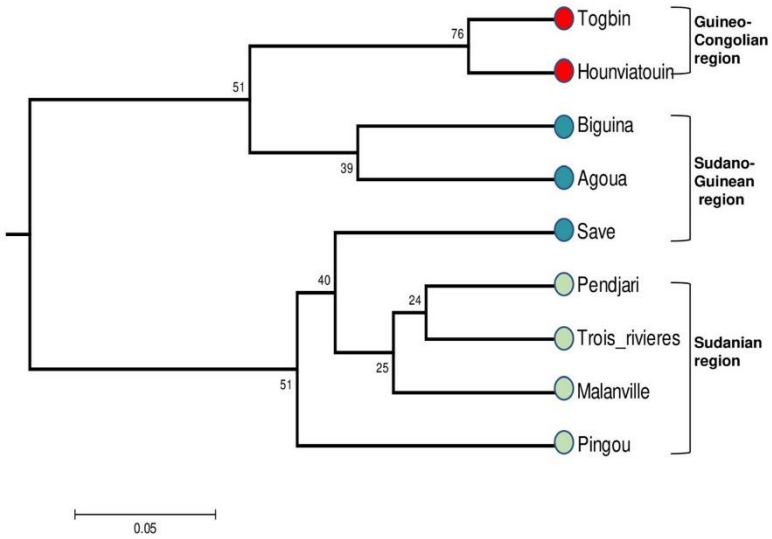


**Fig. 5** UPGMA dendrogram based on genetic distances between Beninese *B. aethiopum* sampling locations. Bootstrap values supporting each branch are indicated on the nodes

elephants in their migrations. Up until 1982, the seasonal occurrence of the animal has been reported in the Wari-Maro forest of Central Benin [81].

The specific microsatellite markers developed in this study from the partial genomic sequencing of *B. aethiopum* appear to be efficient to assess the genetic diversity and population structure of this species. Additionally, and provided that genome divergence is not too extensive to allow marker transferability, our SSR markers may also been used in a palm species that belongs to the same genus and that is reported to share parts of its distribution area, namely *Borassus akeassii* B.O.G., which has long been confused with *B. aethiopum* due to its similar morphology [82]. High-throughput sequencing techniques are an effective way of developing new microsatellite markers in plant species without significant molecular data. The increasing technical performances and financial affordability of these technologies make it feasible to overcome the difficulties arising in case studies such as ours, where marker transfer was proved to be limited or ineffective.

## Conclusions

To our knowledge, the data presented in the present article constitute the first sizeable molecular resource available for *Borassus aethiopum*, which we have made available to the scientific community at large in order to facilitate the implementation of an increasing number of studies on this palm species. Using 11 newly identified SSR markers, we have also performed the first analysis of the genetic diversity of *B. aethiopum* in an African country, which we see as a first step towards the elaboration of an evidence-based strategy for sustainable resource management and preservation in Benin. Our results support the hypothesis that pollen and seed dispersal mainly occur within sites, leading to crosses among related individuals. The exception to this general rule in the region of Savè (Center) seems to indicate long-range transfer of genes as a result to animal and/or human movements towards and from forest reserves of the North. Further research into the characteristics of these migrations and their impact on gene flow among *B. aethiopum* populations is required in order to confirm this assumption. As a complement to the present work, the acquisition of agro-morphological data is currently under way, in a bid to elucidate the reproductive development and breeding system of the species. As a longer-term perspective, we also plan to extend our analysis of *B. aethiopum* diversity to the West African sub-region, and leverage the data acquired to improve knowledge of other species within the *Borassus* genus, and of palms diversity as a whole.

## Methods

### Plant material sampling and DNA extraction

Samples of *Borassus aethiopum* were collected from wild populations in nine distinct sites (three located in protected forest areas, six in farmlands) that were distant from each other by at least 50 km and which spanned the three main climatic regions encountered in Benin

**Table 8** Characteristics of the palm SSR markers tested for transferability to *B. aethiopum*

| Marker name | Primer sequences (5′-3′ orientation) | $T_a$ (°C) | Source palm species | Successful transfer to other palm species | References |
|---|---|---|---|---|---|
| mEgCIR0230 | CCCTGGCCCCGTTTTTC | 57.0 | *E. guineensis* | *E. oleifera*<br>*Syragus* sp.<br>*C. nucifera*<br>*P. roebelinii*<br>*P. canariensis*<br>*P. reclinata* | [62] |
| | AGCGCTATATGTGATTCTAA | | | | |
| mEgCIR0326 | GCTAACCACAGGCAAAAACA | 59.0 | | | |
| | AAGCCGCACTAACATACA CATC | | | | |
| mEgCIR0465 | TCCCCCACGACCCATTC | 63.1 | | | |
| | GGCAGGAGAGGCAGCATTC | | | | |
| mEgCIR0476 | TTCCTCGGCCCCTTCTC | 61.6 | | | |
| | TCGCCGACCTTCCACTG | | | | |
| EgCSSR-5781 | TTCACGCTACTGATGGTTGG | 59.4 | *E. guineensis* | *B. flabellifer* | [49] |
| | TCGATCCCTTCTCTGGAAAC | | | | |
| EgCSSR-1461 | GTCCTCTCCTACGCCTCCTC | 60.3 | | | |
| | ATGCGATCCGAGTTCAGAAG | | | | |
| mEgCIR2332 | GAAGAAGAGCAAAAGA GAAG | 55.0 | *E. guineensis.* | *B. flabellifer* | [44, 45] |
| | GCTAGGTGAAAAATAAAGTT | | | | |
| mEgCIR3295 | TGCCTCCAGACAATCAC | 55.0 | | | |
| | GTAAGGCTTAACCAGATAAC | | | | |
| mEgCIR3311 | AATCCAAGTGGCCTACAG | 55.0 | | | |
| | CATGGCTTTGCTCAGTCA | | | | |
| mEgCIR3413 | AAAGCTATGGGGTGAAAGAT | 55.0 | | | |
| | TGGATAAGGGCGAGAAGAGA | | | | |
| mEgCIR3477 | CCTTCAAGCAAAGATACC | 55.0 | | | |
| | GGCACCAAACACAGTAA | | | | |
| mEgCIR3592 | GAGCCAAAACAGACTTCAA | 55.0 | | | |
| | ACCGTATATGACCCCTCTC | | | | |
| mEgCIR3755 | GCTCACCAAAAAGTGTTA AGTC | 55.0 | | | |
| | AGTTTCAACGGCAGGTATAT | | | | |
| mEgCIR3788 | TTGTATGACCAAAGACAGC | 55.0 | | | |
| | AGCGCAACATCAGACTA | | | | |
| ESSR75 | AGATGGTTGGAGATTTCA TGGT | 60.0 | *E. guineensis* | *B. flabellifer* | [44, 45, 47] |
| | AACTTGAGGGTGCCATTA CAAG | | | | |
| ESSR76 | CCATACCAGCAGAAGAGG ATGT | 60.0 | | | |
| | CTGAAGGTCATAGGGGTC TCTG | | | | |
| ESSR82R | CCCTCGACACCCATAGTT ATTT | 60.0 | | | |
| | CTCGATTTCTGGCCTCTCATAC | | | | |
| ESSR332 | AGTTAATGTGTCAGGGCC AGTT | 60.0 | | | |
| | CTTGGTTCACTTGGGTGTGTC | | | | |
| ESSR553 | ATAAATTGTGCGAGGGGA AAAC | 60.0 | | | |

**Table 8** Characteristics of the palm SSR markers tested for transferability to *B. aethiopum (Continued)*

| Marker name | Primer sequences (5′-3′ orientation) | $T_a$ (°C) | Source palm species | Successful transfer to other palm species | References |
|---|---|---|---|---|---|
| | AGATCCGCGACAGGTCTTAAC | | | | |
| ESSR566 | GTGTCATCAAATTCGGTCCTTT | 60.0 | | | |
| | CGGTTCTTCTGCTGCTCTACTT | | | | |
| ESSR609 | AGGCGGTGATGAAGATGAAG | 59.0 | | | |
| | CTCCTCTCAAACAGAGTG GGAT | | | | |
| ESSR650 | GCCTTTTCTGGTTAATGGACTG | 59.0 | | | |
| | GTTTGTCTATGGATGATT GTGAGG | | | | |
| ESSR652 | CATACCGTCACCACTCAG AAAC | 60.0 | | | |
| | GCCGTCATTCTACCAGTTGAG | | | | |
| ESSR673 | TTCTGGCTACGAGCATAAGGA | 59.0 | | | |
| | TCAATAACCCTGGCTAAA CACA | | | | |
| ESSR681 | TCTGAATTGTCGGAGTGGC | 59.0 | | | |
| | CATCCTTGCGTAAACAAA AGAG | | | | |
| CNZ34 | CATGTCGATAATTATACCCAA | 55.0 | *C. nucifera* | *B. flabellifer*<br>*K.laciniosa*<br>*Z. zalacca*<br>*D.kurzianus*<br>*C.simplicifolia*<br>*C. mannan*<br>*C. thwaitesii*<br>*C. erectus*<br>*C. palustris* | [46, 63] |
| | TGCAAATATGAATGCAAACAC | | | | |
| CN2A5 | AAGGTGAAATCTATGAACACA | 53.2 | | | |
| | GGCAGTAACACATTACACATG | | | | |
| CNZ 12 | TAGCTTCCTGAGATAAGATGC | 54.6 | *C. nucifera* | *B. flabellifer*<br>*P. dactylifera*<br>*E. guineensis* | [46, 64] |
| | GATCATGGAACGAAAACATTA | | | | |
| CNZ 24 | TCCTAAGCTCAATACTCACCA | 55.0 | | | |
| | CGCATTGATAAATACAAGCTT | | | | |
| CNZ 18 | ATGGTTCAGCCCTTAATAAAC | 60.3 | | | |
| | GAACTTTGAAGCTCCCATCAT | | | | |
| CNZ 42 | TGATACTCCTCTGTGATGCTT | 55.5 | | | |
| | GTAGATTGTGGGAGAGGA ATG | | | | |
| CN2A4 | CAGGATGGTTCAAGCCCTTAA | 61.0 | | | |
| | GGTGGAAGAGGGAGAGAT TGA | | | | |
| CAC 21 | AATTGTGTGACACGTAGCC | 54.1 | *C. nucifera* | *B. flabellifer* | [65, 66] |
| | GCATAACTCTTTCATAAGGGA | | | | |
| CAC 71 | ATAGCTCAAGTTGTTGCTAGG | 54.2 | | | |
| | ATATTGTCATGATTGAGCCTC | | | | |
| CAC 84 | TTGGTTTTTGTATGGAACTCT | 54.4 | | | |
| | AAATGCTAACATCTCAACAGC | | | | |
| CN1H2 | TTGATAGGAGAGCTTCATAAC | 53.2 | *C. nucifera* | *B. flabellifer*<br>*P. dactylifera* | [65] |
| | ATCTTCTTTAATGCTCGGAGT | | | | |
| PdAG-SSR | TCTGATTTCGTTTACTTC TTAGGA | 58.0 | *P. dactylifera* | | [44] |

**Table 8** Characteristics of the palm SSR markers tested for transferability to *B. aethiopum (Continued)*

| Marker name | Primer sequences (5'-3' orientation) | $T_a$ (°C) | Source palm species | Successful transfer to other palm species | References |
|---|---|---|---|---|---|
| | TTCATATTCAGTTGTCGG GTGTA | | | | |
| mPdCIR015 | AGCTGGCTCCTCCCTTCTTA | 59.1 | | | |
| | GCTCGGTTGGACTTGTTCT | | | | |
| mPdCIR063 | CTTTTATGTGGTCTGAGAGA | 52.5 | | | |
| | TCTCTGATCTTGGGTTCTGT | | | | |
| mPdIRD1 | CTCGGAAGGGTATGGACAAA | 59.6 | *P. dactylifera* | *P. reclinata*<br>*P. roebelenii*<br>*P. rupicola*<br>*P. theophrasti*<br>*H. thebaica*<br>*L. carinensis*<br>*C. humilis* | [67] |
| | TTGCCTTCGACGTGGTAGTA | | | | |
| mPdIRD3 | CATTGATCCAACACCACCAC | 60.3 | | | |
| | GCCAAAACCAGCTCTGGT AAC | | | | |
| mPdIRD4 | TTGGTGGCCTTTCTCAGAGT | 59.8 | | | |
| | TGGGATCAAAGTAGGGTTGG | | | | |
| mPdIRD5 | CTATCAGGATGGGGGTGATG | 60.2 | | | |
| | ACCCATCTGCATAGCTCCAG | | | | |
| mPdIRD7 | TGCAATACGATGGCAGAGTC | 60.2 | | | |
| | CCTTGCAAGTTTTCCACACC | | | | |
| mPdIRD8 | CTATTGGGTCCCTTGGTGAG | 59.7 | | | |
| | TGACTGCTCGTCATCAGGTC | | | | |
| mPdIRD10 | ATGCGTTCATCTCCCTTGAG | 59.7 | | | |
| | GCTGCAAACATCATCCTCAC | | | | |
| mPdIRD11 | GAGTTGGAGGCAAAACCAGA | 59.8 | | | |
| | CCACAAAACCCTTGTCTTCC | | | | |
| mPdIRD14 | GAGGGGTTCACGTTTGTGTC | 60.9 | | | |
| | GCACCAAGCACAAGAGCAAT | | | | |
| mPdIRD15 | CCGAGTCTGGCGAAGTAAAC | 60.0 | | | |
| | CTCCCCTTCCTCATCCTCTC | | | | |
| mPdIRD16 | CTGTCCGATCGAATTCTGC | 50.7 | | | |
| | GGACATCTCTTTGCGGTCAT | | | | |
| mPdIRD17 | GTGGGAGAAACCCGAAGAAT | 60.2 | | | |
| | CTGCTGCCTCATCTGCATT | | | | |
| mPdIRD20 | TTGAATGGTCCCCTGTAGGT | 59.5 | | | |
| | GTCCCAGCATGATTGCAGTA | | | | |
| mPdIRD22 | GGCTGTATGGGAAAGACCTG | 59.5 | | | |
| | CCTGCTGCATATTCTTCGTG | | | | |
| mPdIRD24 | GCTCCTGCAGAACCTGAAAC | 59.9 | | | |
| | GGACATCACCGTCCAATTCT | | | | |
| mPdIRD25 | CACTGGAAATTCAGGGCCTA | 59.9 | | | |
| | CCCAATTTCTCAGCCAAGAC | | | | |
| mPdIRD26 | CCTCCAGTTCATGCTTCTCC | 60.0 | | | |
| | GAGCAGACCCGACAGACAAT | | | | |
| mPdIRD28 | GAAACGGTATCGGGATGATG | 59.7 | | | |
| | TTAACGACGCCGTTTCCT | | | | |
| mPdIRD29 | GGCTCCACCATCATTGACA | 60.3 | | | |

**Table 8** Characteristics of the palm SSR markers tested for transferability to *B. aethiopum (Continued)*

| Marker name | Primer sequences (5'-3' orientation) | $T_a$ (°C) | Source palm species | Successful transfer to other palm species | References |
|---|---|---|---|---|---|
| | AACAGCATCGACTGCCTTCT | | | | |
| mPdIRD30 | GCAGATGGTTGAAAGCTCCT | 59.8 | | | |
| | CCCCATTAACAGGATCAACG | | | | |
| mPdIRD31 | GCAGGTGGACTGCAAAATCT | 60.0 | | | |
| | CTATTGGGGTGCTGATCCAT | | | | |
| mPdIRD32 | AAGAAGACATTCCGGCTGGT | 59.9 | | | |
| | GCGGGTGTGTGATATTGATG | | | | |
| mPdIRD33 | GGAGCATACAGTGGGTTTGC | 60.1 | | | |
| | CAGCCTGGGAATGAGGATAG | | | | |
| mPdIRD35 | CAGCCCCTTACTCAGACTGG | 59.6 | | | |
| | CCCATAAGCTGATTGTGCTG | | | | |
| mPdIRD36 | GACACGTTGACGATGTGGAA | 60.7 | | | |
| | CCATTGCTGTTGAGGAGGAG | | | | |
| mPdIRD37 | TTTCCTGCTCGAAAGACACC | 60.2 | | | |
| | CTTAGCCAGCCTCCACACTC | | | | |
| mPdIRD40 | GAGAGATGCGTCAGGGAATC | 59.2 | | | |
| | CCAGAATCTTCCAAGCAAGC | | | | |
| mPdIRD42 | GAGGCAAAACTATGGGAAGC | 59.5 | | | |
| | TTCACTGGAGCAAGGGTAGG | | | | |
| mPdIRD43 | GCAGCCATTGCTTACAGTGA | 60.2 | | | |
| | TAAACTGCTGCCTTCCTTGG | | | | |
| mPdIRD44 | CAGATCCGGGAGATGATGAA | 60.4 | | | |
| | AGCAGGAGCAGCTGCATAA | | | | |
| mPdIRD45 | TAGCCTGTGCATGTTCGTTG | 60.4 | | | |
| | AACAGCAGCTGATGGTGATG | | | | |
| mPdIRD46 | ATGGGTCCATTGGAGGAACT | 60.2 | | | |
| | GACGGAGACCTTGACTGCTC | | | | |
| mPcCIR10 | ACCCCGGACGTGAGGTG | 62.8 | *P. dactylifera* | | Cherif, Castillo and Aberlenc-Bertossi, unpublished data. |
| | CGTCGATCTCCTCCTTTGTCTC | | | | |
| mPcCIR20 | GCACGAGAAGGCTTATAGT | 51.7 | | | |
| | CCCCTCATTAGGATTCTAC | | | | |
| mPcCIR32 | CAAATCTTTGCCGTGAG | 53.3 | | | |
| | GGTGTGGAGTAATCATGT AGTAG | | | | |
| mPcCIR35 | ACAAACGGCGATGGGATTAC | 60.8 | | | |
| | CCGCAGCTCACCTCTTCTAT | | | | |
| mPcCIR50 | CTGCCATTTCTTCTGAC | 50.6 | | | |
| | CACCATGCACAAAAATG | | | | |
| mPcCIR57 | AAGCAGCAGCCCTTCCGTAG | 62.0 | | | |
| | GTTCTCACTCGCCCAAAA ATAC | | | | |
| mPcCIR85 | GAGAGAGGGTGGTGTTATT | 51.8 | | | |
| | TTCATCCAGAACCACAGTA | | | | |
| mPdIRD41 | ATCTTCCATGCAGCCTCAAG | 60.3 | | | |

**Table 8** Characteristics of the palm SSR markers tested for transferability to *B. aethiopum (Continued)*

| Marker name | Primer sequences (5′-3′ orientation) | $T_a$ (°C) | Source palm species | Successful transfer to other palm species | References |
|---|---|---|---|---|---|
| | CAGGTCGTCCCGTCTCTAAA | | | | |
| mPdIRD47 | GTTGGCATCACTTCAGAGCA | 60.1 | | | |
| | GCTCTTTCGGTGCTAGTTGC | | | | |

For each marker, forward (top) and reverse primers (bottom) are provided
$T_a$: average annealing temperature for each primer pair
Species names are abbreviated as follows: *P. roebelinii: Phoenix roebelinii; P. canariensis: Phoenix canariensis; Phoenix reclinata; H. thebaica: Hyphaene thebaica; L. carinensis: Livistona carinensis; C. humilis: Chamaerops humilis; K. laciniosa: Korthalsia laciniosa; Z. zalacca: Zalacca zalacca; D. kurzianus: Daemonorops kurzianus;C. simplicifolia: Calamus simplicifolia;C. mannan: Calamus mannan; C. thwaitesii: Calamus thwaitesii; C. erectus: Calamus erectus; C. palustris: Calamus palustris; P. rupicola: Phoenix rupicola; P. theophrasti: Phoenix theophrasti*

(Fig. 1). According to White [83], Benin covers three contrasted climatic regions which are the Sudanian region in the North, the Sudano-Guinean region in the Center and the Guineo-Congolian region in the South. Along a South-North gradient, the rainfall regime switches from bimodal to unimodal, the climate becomes globally drier [29] and the density of *B. aethiopum* distribution increases [31]. At each location, young leaves from 10 male and 10 female adult trees separated by at least 100 m were collected and stored in plastic bags containing silica gel until further processing. The complete list of samples and their characteristics is available in Additional file 2.

Genomic DNA was extracted from 250 mg of leaves ground to powder under liquid nitrogen using the Chemagic DNA Plant Kit (Perkin Elmer, Germany), according to the manufacturer's instructions on a KingFisher Flex™ (Thermo Fisher Scientific, USA) automated DNA purification workstation. Final DNA concentration was assessed fluorometrically with the GENios Plus reader (TECAN) using bis-benzimide H 33258 (Sigma-Aldrich) as a fluorochrome.

#### *Transferability of palms microsatellite markers: selection and amplification*

A total of 80 SSR markers from previous studies were selected for assessment of their transferability to *B. aethiopum*: 44 developed for *Phoenix dactylifera* [67]; 25 developed for *Elaeis guineensis* [44, 62]; and 11 developed for *Cocos nucifera* [65]. The respective sequences and origins of these primer sets are displayed in Table 8.

Transferability of the 80 palm SSR markers was assessed on a representative subset of 20 *B. aethiopum* individuals sampled at the different locations, plus four positive controls from each.

source species for these markers (i.e. *P. dactylifera, C. nucifera,* and *E. guineensis*). Microsatellite amplification was performed with a modification of the M13-tailed Primers protocol [63] adapted to the use of fluorescent labelling [64]. The PCR reaction was performed on 20 ng of leaf DNA in volume of 20 µL with the following final concentrations or amounts: 1X PCR buffer, 200 µM dNTP, 2 mM $MgCl_2$, 0.4 pmol M13-tailed forward primer, 4 pmol M13 primer, (5′-CACGACGTTGTAAA ACGAC-3′) fluorescently labeled at the 5′ end with FAM, HEX or TAMR, 4 pmol reverse primer, and 0.5 U of KAPA *Taq* polymerase (Sigma-Aldrich). The following program was used: 3 min of initial denaturation at 95 °C, followed by 35 cycles of 30 s at 95 °C, 30 s at 50 °C and 72 °C for 1 min and a final extension at 72 °C for 5 min. The resulting amplification products were then diluted to 1/10th, mixed with 0.5 µL of an internal size standard (GeneScan 500 ROX, Thermo Fisher Scientific), and denatured for 5 min at 94 °C prior to separation through capillary electrophoresis on an Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific). Amplification products visualization was performed using the GeneMapper software version 3.7 (Applied Biosystems).

#### *De novo identification of microsatellite loci in the B. aethiopum genome, marker selection and diversity analysis*

One *B. aethiopum* leaf sample (originating from the Togbin site) was randomly selected and used for genomic DNA purification according to the protocol of Mariac et al. [84]. The DNA was then used for the construction of an Illumina paired-end library, as described in Mariac et al. [85], before high-throughput sequencing on a MiSeq v3 platform (Illumina; average read size 250 bp). Demultiplexing of the raw data output was performed using the Maillol script (https://github.com/maillol/demultadapt), with a 0-mistmatch threshold. Adapters were eliminated using Cutadapt version 1.10 [86]. (http://code.google.com/p/cutadapt/) with the following parameters: overlap length = 7, minimum length = 35 and quality = 20. High-quality reads (Q > 30) were filtered using the following script: https://github.com/SouthGreenPlatform/arcad-hts/blob/master/scripts/arcad_hts_2_Filter_Fastq_On_Mean_Quality.pl and the resulting filtered reads were deposited into GenBank under BioProject ID PRJNA576413. Paired-end reads were then merged using FLASH version 1.2.11 (https://github.com/SouthGreenPlatform/arcad-hts/blob/

master/scripts/arcad_hts_3_synchronized_paired_fastq.pl). Finally, microsatellite motif detection and specific primer design were carried out after elimination of redundant sequences using the QDD software version 3.1.2 [87] with default settings (detailed in Additional file 3).

Using selected primer pairs, test amplifications were performed with two randomly selected *B. aethiopum* DNA samples, then primers showing successful amplification were further tested for polymorphism detection among seven randomly selected DNA samples. The M13 Tailed Primers protocol described previously was used, with the following program: 3 min of initial denaturation at 95 °C, followed by 35 cycles of 30 s at 95 °C, 30 s at 55 °C and 72 °C for 1 min and a final extension at 72 °C for 5 min. Separation and vizualization of amplification products were performed as described previously. Finally, the primer pairs enabling successful and unambiguous amplification of polymorphic bands were used for the analysis of genetic diversity among the complete set of 180 *B. aethiopum* individuals under the same PCR conditions.

### Data analysis

Amplification products were scored using the GeneMapper software version 3.7 (Applied Biosystems) and only unambiguous amplification products were considered for data analysis. Genetic diversity parameters were calculated for each locus and each sampling location using the GenAlEx software version 6.502 [88]. Expected heterozygosity (He) was calculated using the formula:

$$He = 1 - \sum p_i^2$$

where $p_i$ is the frequency of each allele. The fixation index (F) was calculated as:

$$F = 1 - \frac{H_0}{He}$$

where Ho is observed heterozygosity and He is expected heterozygosity [89].

F-statistics analysis assessing genetic differentiation (Fst), genetic identity, number of migrants (Nm) [90] and non-hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) for estimating genetic differentiation within and among locations were performed with the same software. Allelic richness was calculated using the SPAGeDi software version 1.5 (http://ebe.ulb.ac.be/ebe/SPAGeDi.html [91];). Consecutively to K determination (see below), successive hierarchical AMOVA analyses were carried out with K = 2 and K = 3. The Mantel permutation test was used for assessing the correlation between genetic and geographic distances between sampling sites [92, 93]. Two Principal Coordinates Analyses (PCoA) enabling the visualization of genetic variation distribution across individuals and sampling sites, respectively, were performed using GenAlEx.

The STRUCTURE software version 2.3.4 [94] was used for the determination of the most probable number of clusters for population structure (K value). Using the admixture model, eight simulations were performed for each inferred K value, with a running length composed of 300,000 burn-in periods and 50,000 Markov chain Monte Carlo (MCMC) replicates. The output from this analysis was then used as input in the Structure HARVESTER online program version 0.6.94 (http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/) to determine the optimal value of K using the ΔK method of Evanno et al. [95] and allowing for different estimates of K in accordance with Janes et al [50]. Based on the resulting values of K, a clustering analysis of the studied sampling sites was performed and graphical output was generated using CLUMPAK's main pipeline (http://clumpak.tau.ac.il [96]; ). In order to further assess genetic clustering, a UPGMA tree based on Fst values using 1000 bootstrap replications was constructed using the POPTREE2 software [97].

## Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at https://doi.org/10.1186/s12863-020-00955-y.

**Additional file 1.** List and characteristics of putative microsatellite loci identified in the genome of *Borassus aethiopum* through QDD analysis. Characteristics (basic motif, length) of the microsatellite loci and of the primer pairs (length, position, Tm, stability, amplicon size and sequence) designed for their targeted amplification.

**Additional file 2.** List of sampled *Borassus aethiopum* individuals. M, F: male or female palm, respectively. All geographic coordinates are provided as North from the Equator (latitude) and East from the Greenwich meridian (longitude), respectively.

**Additional file 3.** Default QDD software settings. Parameters used in the QDD detection of microsatellite loci.

**Additional file 4.** Results of the Bayesian cluster analysis with variable values of K. Graphical summary generated from STRUCTURE results by CLUMPAK's main pipeline with values of K ranging from 1 to 10.

### Abbreviations

AMOVA: Analysis of molecular variance; F: Fixation index; $F_{st}$: Inter-population genetic differentiation coefficient; He: Expected Heterozygosity; Ho: Observed Heterozygosity; HWE: Hardy-Weinberg equilibrium; Na: Average number of different alleles; Ne: Effective number of alleles; $N_m$ : Number of migrants; PCoA: Principal coordinate analysis; SSR: Simple sequence repeat; UPGMA: Unweighted pair-group method with arithmetic mean

### Acknowledgements

The Authors wish to thank Emira Cherif, Karina Castillo and Frédérique Aberlenc (IRD, UMR DIADE, Montpellier, France) for sharing their unpublished microsatellite markers data for transferability tests, and Dr. Jaume Pellicer (Comparative Plant & Fungal Biology, Jodrell Laboratory, Royal Botanical Gardens, Kew, UK), for allowing us to use the palm flow cytometry data.

### Authors' contributions

KVS, EJ, TB and KA conceived and designed the experiments and were responsible for funding acquisition. All authors were involved in defining the experimental strategy. MJK, SS, ML, CTC, KA, KVS performed the experiments.

MJK, KA, SS, CM, LZ and TB processed and analyzed data. All authors contributed to writing and revising the manuscript. The author(s) read and approved the final manuscript.

**Funding**
The work described in this article was funded through travel grants to MJK and KA under the framework of the MooSciTIC project granted to EJ by Agropolis Fondation (ID 1501–011, "Investissements d'Avenir" Program - Labex Agro: ANR-10-LABX-0001-01). Additional funding was provided by the Sud Expert Plantes - Développement Durable (SEP2D) programme to KA (GenPhyB project, ID AAP3–64). MJK is the recipient of a PhD fellowship from the French Embassy in Benin. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Availability of data and materials**
Data generated from genome sequencing (filtered reads) were deposited into GenBank under BioProject ID PRJNA576413. Capillary electrophoresis profiles are available upon reasonable request to the Corresponding Author. All other data generated or analyzed during this study are included in this published article (and its supplementary information files).

**Ethics approval and consent to participate**
In accordance with the Nagoya Protocol on Access and Benefit Sharing (ABS), a field permit allowing access and non-commercial use for research purposes of the plant material used in the present study has been submitted to the competent national authority (Direction Générale des Eaux, Forêts et Chasse/Ministère du Cadre de Vie et du Développement Durable, Benin).

**Consent for publication**
Not applicable.

**Competing interests**
The authors declare that they have no competing interests.

**Author details**
[1]Laboratoire de Microbiologie et de Technologie Alimentaire (LAMITA), Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin. [2]Biodiversité et Ecologie des Plantes (BDEP), Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin. [3]DIADE, Univ Montpellier, IRD, Montpellier, France. [4]Laboratoire de Biomathématiques et d'Estimations Forestières (LABEF), Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin. [5]AGAP, Univ Montpellier, CIRAD, INRAE, Montpellier SupAgro, Montpellier, France. [6]CIRAD, UMR DIADE, Montpellier, France.

Received: 18 June 2020 Accepted: 17 November 2020
Published online: 03 December 2020

**References**

1. Fan L, Zhang M-Y, Liu Q-Z, Li L-T, Song Y, Wang L-F, et al. Transferability of newly developed pear SSR markers to other Rosaceae species. Plant Mol Biol Rep. 2013;31:1271–82.
2. Oliveïra EJ, Pádua JG, Zucchi MI, Vencovsky R, Vieira MLC. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. Genet Mol Biol. 2006;29:294–307.
3. Huang XQ, Cöster H, Ganal MW, Röder MS. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor Appl Genet. 2003;106:1379–89.
4. Moon HSMS, Nicholson JSNS, RSLS L. Use of transferable *Nicotiana tabacum* L. microsatellite markers for investigating genetic diversity in the genus *Nicotiana*. Genome. 2008. https://doi.org/10.1139/G08-039.
5. Muriira NG, Muchugi A, Yu A, Xu J, Liu A. Genetic diversity analysis reveals genetic differentiation and strong population structure in Calotropis plants. Sci Rep. 2018;8:7832.
6. Mohamed A, García-Martínez S, Loumerem M, Carbonell P, Ruiz JJ, Boubaker M. Assessment of genetic diversity among local pea (*Pisum sativum* L.) accessions cultivated in the arid regions of Southern Tunisia using agro-morphological and SSR molecular markers. Genet Resour Crop Evol. 2019;66:1189–203.
7. Yuan Q-J, Zhang Z-Y, Hu J, Guo L-P, Shao A-J, Huang L-Q. Impacts of recent cultivation on genetic diversity pattern of a medicinal plant, *Scutellaria baicalensis* (Lamiaceae). BMC Genet. 2010;11:29.
8. Ellegren H. Microsatellite mutations in the germline:: implications for evolutionary inference. Trends Genet. 2000;16:551–8.
9. Kalia RK, Rai MK, Kalia S, Singh R, Dhawan AK. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. Euphytica. 2011;177:309–34.
10. Nadeem MA, Nawaz MA, Shahid MQ, Doğan Y, Comertpay G, Yıldız M, et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. Biotechnol Biotechnol Equip. 2018;32:261–85.
11. Satya P, Paswan PK, Ghosh S, Majumdar S, Ali N. Confamiliar transferability of simple sequence repeat (SSR) markers from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and jute (*Corchorus olitorius* L.) to twenty two Malvaceous species. 3. Biotech. 2016;6:65.
12. Wang C, Jia G, Zhi H, Niu Z, Chai Y, Li W, et al. Genetic diversity and population structure of chinese foxtail millet [*Setaria italica* (L.) Beauv.] landraces. G3: genes, genomes. Genetics. 2012;2:769–77.
13. Squirrell J, Hollingsworth PM, Woodhead M, Russell J, Lowe AJ, Gibby M, et al. How much effort is required to isolate nuclear microsatellites from plants? Mol Ecol. 2003;12:1339–48.
14. Mnejja M, Garcia-Mas J, Audergon J-M, Arús P. *Prunus* microsatellite marker transferability across rosaceous crops. Tree Genet Genomes. 2010;6:689–700.
15. Wünsch A. Cross-transferable polymorphic SSR loci in *Prunus* species. Sci Hortic. 2009;120:348–52.
16. Yu F, Wang B-H, Feng S-P, Wang J-Y, Li W-G, Wu Y-T. Development, characterization, and cross-species/genera transferability of SSR markers for rubber tree (*Hevea brasiliensis*). Plant Cell Rep. 2011;30:335–44.
17. Karaca M, Ince AG, Aydin A, Ay ST. Cross-genera transferable e-microsatellite markers for 12 genera of the Lamiaceae family: cross-genera transferable e-microsatellite markers for Lamiaceae. J Sci Food Agric. 2013;93:1869–79.
18. Raveendar S, Lee G-A, Jeon Y-A, Lee Y, Lee J-R, Cho G-T, et al. Cross-amplification of *Vicia sativa* subsp. *sativa* microsatellites across 22 other *Vicia* species. Molecules. 2015;20:1543–50.
19. Pratap A, Gupta S, Tomar R, Malviya N, Maurya R, Pandey VR, et al. Cross-genera amplification of informative microsatellite markers from common bean and scarlet runner bean for assessment of genetic diversity in mungbean (*Vigna radiata*). Plant Breed. 2016;135:499–505.
20. Taheri S, Lee Abdullah T, Yusop M, Hanafi M, Sahebi M, Azizi P, et al. Mining and development of novel SSR markers using next generation sequencing (NGS) data in plants. Molecules. 2018;23:399.
21. Purwoko D, Cartealy IC, Tajuddin T, Dinarti D, Sudarsono S. SSR identification and marker development for sago palm based on NGS genome data. Breed Sci. 2019;69:1–10.
22. Grubisha LC, Nelson BA, Dowie NJ, Miller SL, Klooster MR. Characterization of microsatellite markers for pinedrops, *Pterospora andromedea* (Ericaceae), from Illumina MiSeq sequencing. Appl Plant Sci. 2014;2:1400072.
23. Sun Z-X, Ye L-J, Zhang F, Hu W, Fan D-M, Zhang Z-Y. Development of microsatellite markers for *Sargentodoxa cuneata* (Lardizabalaceae) using next-generation sequencing technology. Appl Plant Sci. 2016;4:1600003.
24. Gruca M, Yu W, Amoateng P, Nielsen MA, Poulsen TB, Balslev H. Ethnomedicinal survey and in vitro anti-plasmodial activity of the palm *Borassus aethiopum* Mart. J Ethnopharmacol. 2015;175:356–69.
25. Blach-Overgaard A, Svenning J-C, Dransfield J, Greve M, Balslev H. Determinants of palm species distributions across Africa: the relative roles of climate, non-climatic environmental factors, and spatial constraints. Ecography. 2010;33:380–91.
26. Salako KV, Moreira F, Gbedomon RC, Tovissodé F, Assogbadjo AE, Glèlè Kakaï RL. Traditional knowledge and cultural importance of *Borassus aethiopum* Mart in Benin: interacting effects of socio-demographic attributes and multi-scale abundance. J Ethnobiol Ethnomedicine. 2018;14:36.
27. Ouinsavi C, Gbémavo C, Sokpon N. Ecological structure and fruit production of African Fan palm (*Borassus aethiopum*) populations. Am J Plant Sci. 2011;02:733.
28. Gbesso F, Nassi KM, Gbesso GHF, Akoegninou A. Utilisation sociale de *Borassus aethiopum* Mart et de ses habitats dans les Communes de Savè et de Glazoué au Bénin. Int J Bio Chem Sci. 2017;11:1512.
29. Adomou AC, Agbani OP, Sinsin B. Plantes. In: Neuenschwander P, Sinsin B, Georg G, editors. Protection de la nature en Afrique de l'Ouest: une liste rouge pour le Bénin - Nature conservation in West Africa: red list for Benin. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture (IITA); 2011. p. 21–46.
30. Gbesso F, Yedomonhan H, Tente B, Akoegninou A. Distribution géographique des populations de rôniers (*Borassus aethiopum* Mart,

Arecaceae) et caractérisation phytoécologique de leurs habitats dans la zone soudano-guinéenne du Bénin. J Appl Biosci. 2014;74:6099.
31. Salako VK, Assogbadjo AE, Adomou AC, Agbangla C, Glèlè Kakaï RL. Latitudinal distribution, co-occurring tree species and structural diversity of the threatened palm *Borassus aethiopum* (Arecaceae) in Benin, West Africa. Plant Ecol Evol. 2015;148:335–49.
32. Salako VK, Houehanou TH, Yessoufou K, Assogbadjo AE, Akoegninou A, Glèlè Kakaï RL. Patterns of elephant utilization of *Borassus aethiopum* Mart. And its stand structure in the Pendjari National Park, Benin, West Africa. Trop Ecol. 2017;58:425–37.
33. Montoya D. Habitat loss, dispersal, and the probability of extinction of tree species. Commun Integr Biol. 2008;1:146–7.
34. Ouédraogo A, Boussim J, Zongo J-D, Guinko S. Caracteristiques morphologiques des roniers (*Borassus* L.) du Burkina Faso. Etudes flor vég Burkina Faso. 2002;7:37–40.
35. Dixo M, Metzger JP, Morgante JS, Zamudio KR. Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic coastal Forest. Biol Conserv. 2009;142:1560–9.
36. Jump AS, Peñuelas J. Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103:8096–100.
37. Singh R, Ong-Abdullah M, Low E-TL, Manaf MAA, Rosli R, Nookiah R, et al. Oil palm genome sequence reveals divergence of interfertile species in old and new worlds. Nature. 2013;500:335–9.
38. Al-Dous EK, George B, Al-Mahmoud ME, Al-Jaber MY, Wang H, Salameh YM, et al. *De novo* genome sequencing and comparative genomics of date palm (*Phoenix dactylifera*). Nat Biotechnol. 2011;29:521–7.
39. Al-Mssallem IS, Hu S, Zhang X, Lin Q, Liu W, Tan J, et al. Genome sequence of the date palm *Phoenix dactylifera* L. Nat Commun. 2013;4. https://doi.org/10.1038/ncomms3274.
40. He Z, Zhang C, Liu W, Lin Q, Wei T, Aljohi HA, et al. DRDB: an online date palm genomic resource database. Front Plant Sci. 2017;8. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01889.
41. Huang Y-Y, Matzke AJM, Matzke M. Complete sequence and comparative analysis of the chloroplast genome of coconut palm (*Cocos nucifera*). PLoS One. 2013;8:e74736.
42. Xiao Y, Xu P, Fan H, Baudouin L, Xia W, Bocs S, et al. The genome draft of coconut (*Cocos nucifera*). Gigascience. 2017;6. https://doi.org/10.1093/gigascience/gix095.
43. Bazzo BR, de Carvalho LM, Carazzolle MF, Pereira GAG, Colombo CA. Development of novel EST-SSR markers in the macaúba palm (*Acrocomia aculeata*) using transcriptome sequencing and cross-species transferability in Arecaceae species. BMC Plant Biol. 2018;18:276.
44. Billotte N, Marseillac N, Risterucci A-M, Adon B, Brottier P, Baurens F-C, et al. Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theor Appl Genet. 2005;110:754–65.
45. Pipatchartlearnwong K, Swatdipong A, Vuttipongchaikij S, Apisitwanich S. Genetic evidence of multiple invasions and a small number of founders of Asian Palmyra palm (*Borassus flabellifer*) in Thailand. BMC Genet. 2017;18. https://doi.org/10.1186/s12863-017-0554-y.
46. Rivera R, Edwards KJ, Barker JHA, Arnold GM, Ayad G, Hodgkin T, et al. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in *Cocos nucifera* L. Genome. 1999;42:668–75.
47. Ukoskit K, Chanroj V, Bhusudsawang G, Pipatchartlearnwong K, Tangphatsornruang S, Tragoonrung S. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) linkage map, and quantitative trait locus analysis for sex ratio and related traits. Mol Breed. 2014;33:415–24.
48. Wu Y, Yang Y, Qadri R, Iqbal A, Li J, Fan H, et al. Development of SSR Markers for Coconut (*Cocos nucifera* L.) by Selectively Amplified Microsatellite (SAM) and Its Applications. Trop Plant Biol. 2019;12:32–43.
49. Xiao Y, Xia W, Ma J, Mason AS, Fan H, Shi P, et al. Genome-wide identification and transferability of microsatellite markers between Palmae species. Front Plant Sci. 2016;7. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01578.
50. Janes JK, Miller JM, Dupuis JR, Malenfant RM, Gorrell JC, Cullingham CI, et al. The K = 2 conundrum. Mol Ecol. 2017;26:3594–602.
51. Barbará T, Palma-Silva C, Paggi GM, Bered F, Fay MF, Lexer C. Cross-species transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations. Mol Ecol. 2007;16:3759–67.
52. Manju KP, Manimekalai R, Naganeeswaran SA, Arunachalam V, Karun A. Microsatellites mining in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) and their cross transferability across Arecaceae family. Plant Omics. 2016;9:191–7.
53. Viana MVC, Miranda EA, de Francisco AK, Carvalho CAL, Waldschmidt AM. Transferability of microsatellite primers developed for stingless bees to four other species of the genus *Melipona*. Genet Mol Res. 2011;10:3942–7.
54. Zaki NM, Singh R, Rosli R, Ismail I. Elaeis oleifera genomic-SSR markers: exploitation in oil palm germplasm diversity and cross-amplification in Arecaceae. Int J Mol Sci. 2012;13:4069–88.
55. Nazareno AG, Zucchi MI, dos Reis MS. Microsatellite markers for *Butia eriospatha* (Arecaceae), a vulnerable palm species from the Atlantic rainforest of Brazil. Am J Bot. 2011;98:e198–200.
56. Simplicio RR, Pereira DG, Waldschmidt AM. Transferability of microsatellite markers in *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. (Arecaceae), an iconic palm tree from the Brazilian semiarid region. Genet Mol Res. 2017;16. https://doi.org/10.4238/gmr16029699.
57. Peakall R, Gilmore S, Keys W, Morgante M, Rafalski A. Cross-species amplification of soybean (*Glycine max*) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: implications for the transferability of SSRs in plants. Mol Biol Evol. 1998;15:1275–87.
58. Rossetto M. Sourcing of SSR markers from related plant species. In: Henry RJ, editor. Plant genotyping: the DNA fingerprinting of plants. Wallingford: CABI; 2001. p. 211–24. https://doi.org/10.1079/9780851995151.0211.
59. Rival A, Beulé T, Barre P, Hamon S, Duval Y, Noirot M. Comparative flow cytometric estimation of nuclear DNA content in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) tissue cultures and seed-derived plants. Plant Cell Rep. 1997;16:884–7.
60. Piegu B, Guyot R, Picault N, Roulin A, Saniyal A, Kim H, et al. Doubling genome size without polyploidization: dynamics of retrotransposition-driven genomic expansions in *Oryza australiensis*, a wild relative of rice. Genome Res. 2006;16:1262–9.
61. Hanin M, Paszkowski J. Plant genome modification by homologous recombination. Curr Opin Plant Biol. 2003;6:157–62.
62. Billotte N, Risterucci AM, Barcelos E, Noyer JL, Amblard P, Baurens FC. Development, characterisation, and across-taxa utility of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) microsatellite markers. Genome. 2001;44:413–25.
63. Rao MN, Ramesha BT, Ravikanth G, Ganeshaiah KN, Shaanker RU. Cross-species amplification of coconut microsatellite markers in rattans. Silvae Genet. 2007;56:282–6.
64. Anitha N, Jayaraj KL, Kumar EPA, George J, Rajesh MK. Assessment of cross-taxa utility of coconut microsatellite markers. Indian J Hortic. 2008;65:317–21.
65. Meerow AW, Wisser RJ, Brown SJ, Kuhn DN, Schnell RJ, Broschat TK. Analysis of genetic diversity and population structure within Florida coconut (*Cocos nucifera* L.) germplasm using microsatellite DNA, with special emphasis on the Fiji dwarf cultivar. Theor Appl Genet. 2003;106:715–26.
66. Perera L, Russell JR, Provan J, McNicol JW, Powell W. Evaluating genetic relationships between indigenous coconut (*Cocos nucifera* L.) accessions from Sri Lanka by means of AFLP profiling. Theor Appl Genet. 1998;96:545–50.
67. Aberlenc-Bertossi F, Castillo K, Tranchant-Dubreuil C, Chérif E, Ballardini M, Abdoulkader S, et al. *In silico* mining of microsatellites in coding sequences of the date palm (Arecaceae) genome, characterization, and transferability. Appl Plant Sci. 2014;2:1300058.
68. Willemin V, Cabannes Y, Chantry G. Le ronier et le palmier a sucre: production et mise en œuvre dans l'habitat. Paris: GRET; 1987.
69. Rasmussen IR, Brødsgaard B. Gene flow inferred from seed dispersal and pollinator behaviour compared to DNA analysis of restriction site variation in a patchy population of *Lotus corniculatus* L. Oecologia. 1992;89:277–83.
70. Szczecińska M, Sramko G, Wołosz K, Sawicki J. Genetic Diversity and Population Structure of the Rare and Endangered Plant Species *Pulsatilla patens* (L.) Mill in East Central Europe. PLoS ONE. 2016;11:e0151730.
71. Yamamoto M, Handa Y, Aihara H, Setoguchi H. Development and characterization of 43 microsatellite markers for the critically endangered primrose *Primula reinii* using MiSeq sequencing. Plant Divers. 2018;40:41–4.
72. Gaoue OG, Lemes MR, Ticktin T, Sinsin B, Eyog-Matig O. Non-timber Forest product harvest does not affect the genetic diversity of a tropical tree despite negative effects on population fitness. Biotropica. 2014;46:756–62.
73. Geethika E, Triveni HN, Srirama R, Siva R, Setty S, Ravikanth G. Development and characterization of microsatellite markers for *Phyllanthus emblica* Linn., important nontimber forest product species. J Genet. 2018;97:1001–6.
74. Vinayagam P, Dhandapani J, Raman P, Alagarsamy RK, Muthusamy P, Balaraman SS. Molecular characterization for genetic diversity of Palmyrah (*Borassus flabellifer*) accessions using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. Asian Austral J Plant Sci Biotech. 2009;3:11–5.

75. Bakoumé C, Wickneswari R, Siju S, Rajanaidu N, Kushairi A, Billotte N. Genetic diversity of the world's largest oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) field genebank accessions using microsatellite markers. Genet Resour Crop Evol. 2014;62:349–60.
76. Michon L, Adéoti K, Koffi K, Ewedje E, Stauffer FW. Notes on *Borassus aethiopum* Mart., a multi- purpose palm in Togo and Benin. Palms. 2018;62:57–69.
77. Moniod F. Régime hydrologique de l'Ouémé (Dahomey). Cahiers ORSTOM Série Hydrologie. 1973;10:171–83.
78. Affouda EO. Le royaume Shabè et ses rapports socio-ethniques de voisinage jusqu'à la création de la colonie du Dahomey. In: Mama VJ, editor. Symposium culturel de Yaoui - Première édition 2018 - Peuplement du pays Shabè et occupation du site historique Etoo de Yaoui. Bénin: Yaoui; 2018. p. 20–8.
79. Houessou SO, Dossa LH, Diogo RVC, Houinato M, Buerkert A, Schlecht E. Change and continuity in traditional cattle farming systems of west African coast countries: a case study from Benin. Agric Syst. 2019;168:112–22.
80. Assogbadjo AE, Fandohan B, Kakaï RG, Kyndt T, Hardy OJ, Gheysen G, et al. Genetic evidence of the contribution of ethnic migrations to the propagation and persistence of the rare and declining scrambling shrub *Caesalpinia bonduc* L. Hum Ecol. 2012;40:117–28.
81. Roth HH, Douglas-Hamilton I. Distribution and status of elephants in West Africa. Mammalia. 1991;55:489–527.
82. Bayton RP, Ouédraogo A, Guinko S. The genus *Borassus* (Arecaceae) in West Africa, with a description of a new species from Burkina Faso. Bot J Linn Soc. 2006;150:419–27.
83. White F. The vegetation of Africa: a descriptive memoir to accompany the UNESCO/AETFAT/UNSO vegetation map of Africa. UNESCO. Paris: Natural resources research; 1983.
84. Mariac C, Luong V, Kapran I, Mamadou A, Sagnard F, Deu M, et al. Diversity of wild and cultivated pearl millet accessions (*Pennisetum glaucum* [L.] R. Br.) in Niger assessed by microsatellite markers. Theor Appl Genet. 2006;114:49–58.
85. Mariac C, Scarcelli N, Pouzadou J, Barnaud A, Billot C, Faye A, et al. Cost-effective enrichment hybridization capture of chloroplast genomes at deep multiplexing levels for population genetics and phylogeography studies. Mol Ecol Resour. 2014;14:1103–13.
86. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnet.J. 2011;17:10–2.
87. Meglécz E, Costedoat C, Dubut V, Gilles A, Malausa T, Pech N, et al. QDD: a user-friendly program to select microsatellite markers and design primers from large sequencing projects. Bioinformatics. 2010;26:403–4.
88. Peakall R, Smouse PE. GenAlEx 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Mol Ecol. 2006;6:288–95.
89. Hartl DL, Clark AG. Principles of population genetics. 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates Incorporated; 1997. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19980108046.
90. Wright S. Evolution and the genetics of populations. Chicago: University of Chicago Press; 1969. https://press.uchicago.edu/ucp/books/book/chicago/E/bo5961634.html. Accessed 5 Nov 2020.
91. Hardy OJ, Vekemans X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. Mol Ecol Notes. 2002;2:618–20.
92. Slatkin M. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. Evolution. 1993;47:264–79.
93. Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science. 1987;236:787–92.
94. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics. 2000;155:945–59.
95. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. Mol Ecol. 2005;14:2611–20.
96. Kopelman NM, Mayzel J, Jakobsson M, Rosenberg NA, Mayrose I. CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. Mol Ecol Resour. 2015;15:1179–91.
97. Takezaki N, Nei M, Tamura K. POPTREE2: software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows Interface. Mol Biol Evol. 2010;27:747–52.

**Publisher's Note**
Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:**

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

**At BMC, research is always in progress.**

**Learn more** biomedcentral.com/submissions

BMC

## Données Complémentaires

**S1 Table:** List of sampled *B. aethiopum* individuals.

| N° | Collection site ID | Sample ID | Site | Sex | Latitude | Longitude |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | COLL1 | Bat1 | TOGBIN | M | 06°20'55.9" | 002°19'15.5" |
| 2 | COLL1 | Bat2 | TOGBIN | M | 06°20'55.9" | 002°19'15.1" |
| 3 | COLL1 | Bat3 | TOGBIN | M | 06°21'00.8" | 002°19'09.8" |
| 4 | COLL1 | Bat4 | TOGBIN | M | 06°21'09.1" | 002°19'06.1" |
| 5 | COLL1 | Bat5 | TOGBIN | F | 06°20'52.4" | 002°18'47.0" |
| 6 | COLL1 | Bat6 | TOGBIN | M | 06°20'56.8" | 002°18'43.7" |
| 7 | COLL1 | Bat7 | TOGBIN | F | 06°20'54.0" | 002°18'37.8" |
| 8 | COLL1 | Bat8 | TOGBIN | F | 06°20'53.6" | 002°18'37.6" |
| 9 | COLL1 | Bat9 | TOGBIN | M | 06°20'55.1" | 002°18'35.8" |
| 10 | COLL1 | Bat10 | TOGBIN | F | 06°20'54.7" | 002°18'34.7" |
| 11 | COLL1 | Bat11 | TOGBIN | M | 06°20'57.9" | 002°18'34.5" |
| 12 | COLL1 | Bat12 | TOGBIN | F | 06°20'58.9" | 002°18'36.0" |
| 13 | COLL1 | Bat13 | TOGBIN | F | 06°21'02.5" | 002°18'36.4" |
| 14 | COLL1 | Bat14 | TOGBIN | M | 06°21'01.9" | 002°18'35.8" |
| 15 | COLL1 | Bat15 | TOGBIN | F | 06°21'00.4" | 002°18'33.3" |
| 16 | COLL1 | Bat16 | TOGBIN | M | 06°21'01.8" | 002°18'32.6" |
| 17 | COLL1 | Bat17 | TOGBIN | F | 06°21'00.3" | 002°18'30.7" |
| 18 | COLL1 | Bat18 | TOGBIN | M | 06°20'58.1" | 002°18'27.1" |
| 19 | COLL1 | Bat19 | TOGBIN | F | 06°20'57.9" | 002°18'19.9" |
| 20 | COLL1 | Bat20 | TOGBIN | F | 06°20'57.6" | 002°18'20.7" |
| 21 | COLL2 | Bat21 | HOUNVIATOUIN | M | 06°44'11.2" | 001°59'01.5" |
| 22 | COLL2 | Bat22 | HOUNVIATOUIN | M | 06°44'11.4" | 001°59'01.7" |
| 23 | COLL2 | Bat23 | HOUNVIATOUIN | M | 06°44'12.0" | 001°59'01.8" |
| 24 | COLL2 | Bat24 | HOUNVIATOUIN | M | 06°44'11.8" | 001°59'03.6" |
| 25 | COLL2 | Bat25 | HOUNVIATOUIN | M | 06°44'12.5" | 001°59'04.9" |
| 26 | COLL2 | Bat26 | HOUNVIATOUIN | M | 06°44'14.8" | 001°59'04.3" |
| 27 | COLL2 | Bat27 | HOUNVIATOUIN | F | 06°44'17.0" | 001°59'02.6" |
| 28 | COLL2 | Bat28 | HOUNVIATOUIN | M | 06°44'17.0" | 001°59'00.7" |
| 29 | COLL2 | Bat29 | HOUNVIATOUIN | M | 06°43'50.3" | 001°59'06.4" |
| 30 | COLL2 | Bat30 | HOUNVIATOUIN | M | 06°43'51.3" | 001°59'03.8" |
| 31 | COLL2 | Bat31 | HOUNVIATOUIN | M | 06°43'47.4" | 001°59'06.8" |
| 32 | COLL2 | Bat32 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'48.0" | 001°59'05.8" |
| 33 | COLL2 | Bat33 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'46.5" | 001°59'07.6" |
| 34 | COLL2 | Bat34 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'46.2" | 001°59'08.3" |
| 35 | COLL2 | Bat35 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'43.7" | 001°59'09.7" |
| 36 | COLL2 | Bat36 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'43.4" | 001°59'06.9" |
| 37 | COLL2 | Bat37 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'44.1" | 001°59'06.1" |
| 38 | COLL2 | Bat38 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'53.9" | 001°59'03.4" |
| 39 | COLL2 | Bat39 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'52.8" | 001°59'00.4" |
| 40 | COLL2 | Bat40 | HOUNVIATOUIN | F | 06°43'54.9" | 001°58'59.9" |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 41 | COLL3 | Bat41 | SAVE | F | 08°04'12.2" | 002°31'07.6" |
| 42 | COLL3 | Bat42 | SAVE | M | 08°04'12.2" | 002°31'07.7" |
| 43 | COLL3 | Bat43 | SAVE | F | 08°05'30.8" | 002°32'10.1" |
| 44 | COLL3 | Bat44 | SAVE | M | 08°05'30.2" | 002°32'17.1" |
| 45 | COLL3 | Bat45 | SAVE | M | 08°05'32.5" | 002°32'15.8" |
| 46 | COLL3 | Bat46 | SAVE | F | 08°05'33.0" | 002°32'10.7" |
| 47 | COLL3 | Bat47 | SAVE | M | 08°06'00.5" | 002°32'39.3" |
| 48 | COLL3 | Bat48 | SAVE | F | 08°05'58.0" | 002°32'43.2" |
| 49 | COLL3 | Bat49 | SAVE | F | 08°05'58.4" | 002°32'38.7" |
| 50 | COLL3 | Bat50 | SAVE | F | 08°06'18.5" | 002°32'43.6" |
| 51 | COLL3 | Bat51 | SAVE | M | 08°07'38.6" | 002°34'45.9" |
| 52 | COLL3 | Bat52 | SAVE | M | 08°07'39.9" | 002°34'48.6" |
| 53 | COLL3 | Bat53 | SAVE | M | 08°07'17.6" | 002°37'03.5" |
| 54 | COLL3 | Bat54 | SAVE | M | 08°07'18.6" | 002°37'05.4" |
| 55 | COLL3 | Bat55 | SAVE | F | 08°01'38.3" | 002°28'35.9" |
| 56 | COLL3 | Bat56 | SAVE | M | 08°10'25.9" | 002°37'16.0" |
| 57 | COLL3 | Bat57 | SAVE | M | 08°08'19.6" | 002°35'54.1" |
| 58 | COLL3 | Bat58 | SAVE | F | 08°08'11.9" | 002°36'18.7" |
| 59 | COLL3 | Bat59 | SAVE | F | 08°08'09.8" | 002°36'17.7" |
| 60 | COLL3 | Bat60 | SAVE | F | 08°07'47.2" | 002°34'07.5" |
| 61 | COLL4 | Bat61 | BIGUINA | F | 08°44'46.4" | 001°38'10.3" |
| 62 | COLL4 | Bat62 | BIGUINA | M | 08°44'48.7" | 001°38'05.6" |
| 63 | COLL4 | Bat63 | BIGUINA | F | 08°44'48.9" | 001°38'05.3" |
| 64 | COLL4 | Bat64 | BIGUINA | M | 08°44'49.3" | 001°38'04.8" |
| 65 | COLL4 | Bat65 | BIGUINA | F | 08°44'51.8" | 001°38'05.1" |
| 66 | COLL4 | Bat66 | BIGUINA | M | 08°44'52.5" | 001°38'03.8" |
| 67 | COLL4 | Bat67 | BIGUINA | F | 08°44'52.5" | 001°38'03.3" |
| 68 | COLL4 | Bat68 | BIGUINA | M | 08°44'53.1" | 001°38'02.9" |
| 69 | COLL4 | Bat69 | BIGUINA | F | 08°44'53.2" | 001°38'03.0" |
| 70 | COLL4 | Bat70 | BIGUINA | M | 08°44'53.4" | 001°38'02.5" |
| 71 | COLL4 | Bat71 | BIGUINA | F | 08°44'58.8" | 001°38'04.4" |
| 72 | COLL4 | Bat72 | BIGUINA | M | 08°44'59.7" | 001°38'03.4" |
| 73 | COLL4 | Bat73 | BIGUINA | M | 08°45'01.0" | 001°38'04.3" |
| 74 | COLL4 | Bat74 | BIGUINA | F | 08°45'03.2" | 001°38'04.1" |
| 75 | COLL4 | Bat75 | BIGUINA | F | 08°45'03.8" | 001°38'04.6" |
| 76 | COLL4 | Bat76 | BIGUINA | M | 08°45'04.5" | 001°38'04.8" |
| 77 | COLL4 | Bat77 | BIGUINA | M | 08°45'05.0" | 001°38'05.0" |
| 78 | COLL4 | Bat78 | BIGUINA | F | 08°45'05.5" | 001°38'05.0" |
| 79 | COLL4 | Bat79 | BIGUINA | M | 08°45'05.1" | 001°38'03.8" |
| 80 | COLL4 | Bat80 | BIGUINA | F | 08°45'05.3" | 001°38'06.6" |
| 81 | COLL5 | Bat81 | PENDJARI | M | 11°28'03.6" | 001°33'58.6" |
| 82 | COLL5 | Bat82 | PENDJARI | M | 11°28'03.6" | 001°33'59.2" |
| 83 | COLL5 | Bat83 | PENDJARI | M | 11°28'04.2" | 001°33'59.3" |
| 84 | COLL5 | Bat84 | PENDJARI | F | 11°28'04.6" | 001°33'59.4" |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 85 | COLL5 | Bat85 | PENDJARI | F | 11°28'04.3" | 001°33'59.9" |
| 86 | COLL5 | Bat86 | PENDJARI | F | 11°28'03.5" | 001°34'00.6" |
| 87 | COLL5 | Bat87 | PENDJARI | F | 11°28'03.4" | 001°34'00.9" |
| 88 | COLL5 | Bat88 | PENDJARI | F | 11°28'03.6" | 001°34'01.0" |
| 89 | COLL5 | Bat89 | PENDJARI | M | 11°28'03.0" | 001°33'59.8" |
| 90 | COLL5 | Bat90 | PENDJARI | M | 11°28'01.9" | 001°33'59.5" |
| 91 | COLL5 | Bat91 | PENDJARI | M | 11°28'00.9" | 001°33'57.5" |
| 92 | COLL5 | Bat92 | PENDJARI | M | 11°28'01.6" | 001°33'56.0" |
| 93 | COLL5 | Bat93 | PENDJARI | M | 11°28'01.7" | 001°33'55.0" |
| 94 | COLL5 | Bat94 | PENDJARI | M | 11°27'58.3" | 001°33'54.4" |
| 95 | COLL5 | Bat95 | PENDJARI | F | 11°27'57.6" | 001°33'56.5" |
| 96 | COLL5 | Bat96 | PENDJARI | F | 11°27'58.4" | 001°33'55.8" |
| 97 | COLL5 | Bat97 | PENDJARI | F | 11°27'58.7" | 001°33'55.9" |
| 98 | COLL5 | Bat98 | PENDJARI | F | 11°27'39.0" | 001°34'01.2" |
| 99 | COLL5 | Bat99 | PENDJARI | F | 11°27'38.7" | 001°34'01.0" |
| 100 | COLL5 | Bat100 | PENDJARI | M | 11°27'39.2" | 001°33'56.9" |
| 101 | COLL6 | Bat101 | PINGOU | M | 10°41'39.2" | 001°06'52.9" |
| 102 | COLL6 | Bat102 | PINGOU | F | 10°41'40.9" | 001°06'53.2" |
| 103 | COLL6 | Bat103 | PINGOU | F | 10°41'41.2" | 001°06'53.4" |
| 104 | COLL6 | Bat104 | PINGOU | M | 10°41'44.9" | 001°06'47.6" |
| 105 | COLL6 | Bat105 | PINGOU | F | 10°41'44.6" | 001°06'46.5" |
| 106 | COLL6 | Bat106 | PINGOU | F | 10°41'44.3" | 001°06'46.0" |
| 107 | COLL6 | Bat107 | PINGOU | F | 10°41'45.5" | 001°06'46.2" |
| 108 | COLL6 | Bat108 | PINGOU | F | 10°41'44.4" | 001°06'44.3" |
| 109 | COLL6 | Bat109 | PINGOU | M | 10°41'44.3" | 001°06'44.1" |
| 110 | COLL6 | Bat110 | PINGOU | F | 10°41'44.9" | 001°06'43.9" |
| 111 | COLL6 | Bat111 | PINGOU | M | 10°41'45.8" | 001°06'43.0" |
| 112 | COLL6 | Bat112 | PINGOU | F | 10°41'45.6" | 001°06'43.5" |
| 113 | COLL6 | Bat113 | PINGOU | F | 10°41'46.5" | 001°06'42.7" |
| 114 | COLL6 | Bat114 | PINGOU | F | 10°41'46.8" | 001°06'43.0" |
| 115 | COLL6 | Bat115 | PINGOU | M | 10°41'47.8" | 001°06'41.6" |
| 116 | COLL6 | Bat116 | PINGOU | M | 10°41'47.4" | 001°06'40.0" |
| 117 | COLL6 | Bat117 | PINGOU | M | 10°41'48.0" | 001°06'39.5" |
| 118 | COLL6 | Bat118 | PINGOU | M | 10°41'48.5" | 001°06'40.1" |
| 119 | COLL6 | Bat119 | PINGOU | M | 10°41'50.4" | 001°06'41.5" |
| 120 | COLL6 | Bat120 | PINGOU | M | 10°41'49.1" | 001°06'.42.2" |
| 121 | COLL7 | Bat121 | MALANVILLE | M | 11°49'10.8" | 003°23'54.0" |
| 122 | COLL7 | Bat122 | MALANVILLE | M | 11°49'11.4" | 003°23'53.3" |
| 123 | COLL7 | Bat123 | MALANVILLE | M | 11°49'11.6" | 003°23'53.0" |
| 124 | COLL7 | Bat124 | MALANVILLE | F | 11°49'10.8" | 003°23'53.6" |
| 125 | COLL7 | Bat125 | MALANVILLE | M | 11°49'09.7" | 003°23'55.6" |
| 126 | COLL7 | Bat126 | MALANVILLE | M | 11°49'09.5" | 003°23'55.6" |
| 127 | COLL7 | Bat127 | MALANVILLE | M | 11°49'09.7" | 003°23'55.7" |
| 128 | COLL7 | Bat128 | MALANVILLE | M | 11°49'10.1" | 003°23'55.4" |
| 129 | COLL7 | Bat129 | MALANVILLE | M | 11°49'09.9" | 003°23'55.3" |
| 130 | COLL7 | Bat130 | MALANVILLE | F | 11°49'10.0" | 003°23'55.6" |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 131 | COLL7 | Bat131 | MALANVILLE | F | 11°49'10.3" | 003°23'55.4" |
| 132 | COLL7 | Bat132 | MALANVILLE | M | 11°49'10.1" | 003°23'55.7" |
| 133 | COLL7 | Bat133 | MALANVILLE | F | 11°49'09.5" | 003°23'55.4" |
| 134 | COLL7 | Bat134 | MALANVILLE | F | 11°49'06.6" | 003°23'53.3" |
| 135 | COLL7 | Bat135 | MALANVILLE | M | 11°49'06.6" | 003°23'53.1" |
| 136 | COLL7 | Bat136 | MALANVILLE | F | 11°49'06.2" | 003°23'53.7" |
| 137 | COLL7 | Bat137 | MALANVILLE | F | 11°49'09.0 | 003°23'50.9" |
| 138 | COLL7 | Bat138 | MALANVILLE | F | 11°49'09.5" | 003°23'50.9" |
| 139 | COLL7 | Bat139 | MALANVILLE | F | 11°49'09.9" | 003°23'50.6" |
| 140 | COLL7 | Bat140 | MALANVILLE | F | 11°49'10.2" | 003°23'51.2" |
| 141 | COLL8 | Bat141 | AGOUA | F | 08°17'48.2" | 001°43'38.3" |
| 142 | COLL8 | Bat142 | AGOUA | M | 08°17'47.7" | 001°43'38.5" |
| 143 | COLL8 | Bat143 | AGOUA | M | 08°17'46.8" | 001°43'40.0" |
| 144 | COLL8 | Bat144 | AGOUA | F | 08°17'39.9" | 001°43'42.8" |
| 145 | COLL8 | Bat145 | AGOUA | F | 08°17'40.3" | 001°43'43.4" |
| 146 | COLL8 | Bat146 | AGOUA | F | 08°17'42.6" | 001°43'40.5" |
| 147 | COLL8 | Bat147 | AGOUA | F | 08°17'42.6" | 001°43'40.2" |
| 148 | COLL8 | Bat148 | AGOUA | M | 08°17'42.3" | 001°43'40.8" |
| 149 | COLL8 | Bat149 | AGOUA | M | 08°17'41.2" | 001°43'42.2" |
| 150 | COLL8 | Bat150 | AGOUA | M | 08°17'41.2" | 001°43'42.0" |
| 151 | COLL8 | Bat151 | AGOUA | F | 08°17'48.2" | 001°43'40.4" |
| 152 | COLL8 | Bat152 | AGOUA | M | 08°17'40.7" | 001°43'40.6" |
| 153 | COLL8 | Bat153 | AGOUA | M | 08°17'42.4" | 001°43'40.4" |
| 154 | COLL8 | Bat154 | AGOUA | M | 08°17'43.1" | 001°43'41.4" |
| 155 | COLL8 | Bat155 | AGOUA | M | 08°17'46.3" | 001°43'39.0" |
| 156 | COLL8 | Bat156 | AGOUA | M | 08°17'46.9" | 001°43'38.5" |
| 157 | COLL8 | Bat157 | AGOUA | F | 08°17'53.4" | 001°43'33.5" |
| 158 | COLL8 | Bat158 | AGOUA | F | 08°17'54.1" | 001°43'33.6" |
| 159 | COLL8 | Bat159 | AGOUA | F | 08°17'54.2" | 001°43'34.6" |
| 160 | COLL8 | Bat160 | AGOUA | F | 08°17'57.8" | 001°43'38.6" |
| 161 | COLL9 | Bat161 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'15.5" | 002°55'40.3" |
| 162 | COLL9 | Bat162 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'20.7" | 002°55'38.4" |
| 163 | COLL9 | Bat163 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'20.5" | 002°55'40.9" |
| 164 | COLL9 | Bat164 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'33.5" | 002°55'45.5" |
| 165 | COLL9 | Bat165 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'44.5" | 002°55'40.4" |
| 166 | COLL9 | Bat166 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'40.7" | 002°55'39.6" |
| 167 | COLL9 | Bat167 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'35.6" | 002°55'40.1" |
| 168 | COLL9 | Bat168 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'34.7" | 002°55'37.5" |
| 169 | COLL9 | Bat169 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'37.8" | 002°55'42.1" |
| 170 | COLL9 | Bat170 | TROIS RIVIERES | F | 10°38'47.0" | 002°55'45.8" |
| 171 | COLL9 | Bat171 | TROIS RIVIERES | M | 10°30'21.2" | 002°55'39.7" |
| 172 | COLL9 | Bat172 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'20.7" | 002°55'40.5" |
| 173 | COLL9 | Bat173 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'22.5" | 002°55'42.7" |
| 174 | COLL9 | Bat174 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'23.8" | 002°55'37.8" |
| 175 | COLL9 | Bat175 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'24.7" | 002°55'38.9" |
| 176 | COLL9 | Bat176 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'25.0" | 002°55'41.7" |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 177 | COLL9 | Bat177 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'27.9" | 002°55'40.5" |
| 178 | COLL9 | Bat178 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'32.4" | 002°55'35.8" |
| 179 | COLL9 | Bat179 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'41.7" | 002°55'42.1" |
| 180 | COLL9 | Bat180 | TROIS RIVIERES | M | 10°38'45.1" | 002°55'41.8" |

M, F: = male or female palm, respectively.

All geographic coordinates are provided as North from the Equator (latitude) and East from the Greenwich meridian (longitude), respectively.

# CHAPITRE 2

## Reconstruction de l'histoire évolutive du genre *Borassus* : Relation phylogénétique et biogéographie à la lumière des changements climatiques passés.

Auteur : Kpatènon M. J., Helmstetter A., Jaligot E., Adéoti K., Béthune K., Couvreur T.L.P.

Article en préparation …

**Résumé**

**Contexte :** Parmi les 182 genres de palmiers connus à travers le monde, le genre *Borassus* est le deuxième genre le plus répandu de la famille des Arecaceae. Ce genre est caractéristique des écosystèmes semi-arides. Les cinq espèces reconnues pour ce genre sont toutes très importantes sur les plans socio-économique, médical et culturel pour les populations locales. Cependant, l'histoire biogéographique et les relations phylogénétiques entre ces différentes espèces restent ambiguës, car ce genre de palmier a reçu très peu d'attention à cause des difficultés de collecte et l'étendue de la zone de distribution de ces espèces. La majorité des descriptions taxonomiques sur ce genre de palmier reste sans étude moléculaire. Il a été suggéré que l'évolution des espèces de ce genre a été sous l'influence des fluctuations climatiques passées.

**Matériels et méthodes :** Nous avons échantilloné 29 individus de palmier représentant les cinq espèces du genre *Borassus* et 12 outgroups. Nous avons revisité les relations phylogénétiques grâce au kit d'appât de 176 gènes spécifiques aux palmiers. Puis avec un sous échantillon de 32 gène nous avons estimé les temps de divergence entre espèces avec trois fossiles de palmiers. Nous avons déduit de ces analyses l'histoire biogéographique du genre *Borassus*.

**Résultats :** nos résultats suggèrent une origine asiatique pour le genre *Borassus* qui a divergé du genre *Borassodendron* vers la fin de l'Oligocène il y a 24,4 Ma. La plus vieille espèce de ce genre est le *B. heineanus*. Ce genre s'est diversifié de l'Asie vers l'Afrique avec deux événements de migration entre l'Afrique et le Madagascar au cours du Pliocène il y a environ 5,66 Ma et 3,05 Ma respectivement. Ces périodes de diversification correspondent aux périodes arides passées qui ont été favorables à l'expansion des espèces de savanes. *Borassus madagascariensis* s'est révélé être l'espèce sœur de *B. aethiopum* et nous avons également apporté l'affirmation sur une base moléculaire de la présence de *B. akeassii* au Sénégal.

**Conclusion :** Les fluctuations climatiques passées notamment les périodes d'aridité accrue ont joué un rôle prépondérant dans la diversification des espèces du genre *Borassus* de l'Asie vers l'Afrique au cours du Miocène. Puis de l'Afrique vers Madagascar suivie d'une dernière migration de Madagascar vers l'Afrique ayant donné *B. aethiopum*.

**Introduction**

Le genre *Borassus* (Arecaceae ; sous-famille des Coryphoïdeae) est un groupe de palmier monophylétique composé de cinq espèces dont les relations phylogénétiques et l'histoire biogéographique ont été peu documentées (Assi et Guinko 1996; Bayton 2005; Bellot et al. 2020). L'âge de spéciation ainsi que le sens de divergence des différentes espèces de ce genre de palmier sont incertains (Bellot et al. 2020). Dans certains habitats où plusieurs espèces de ce genre coexistent, il est courant de constater une confusion dans leur identification par les populations locales (Ake Assi et Guinko 1996). Cependant, comprendre le mécanisme évolutif des espèces végétales et les facteurs ayant conduit à façonner la biodiversité au sein d'un genre pourrait contribuer à organiser les efforts de conservation et de protection sur la base des connaissances fournies par l'étude de l'évolution (Huang, Goldberg, et Roy 2015).

La première reconstruction phylogénétique moléculaire du genre *Borassus* ayant permis d'établir la monophylie du genre et reconnaître l'existence de 5 espèces au sein de ce genre s'est basée sur l'utilisation de sept marqueurs nucléaires, chloroplastiques et morphologiques (Bayton 2005). Les marqueurs moléculaires utilisés dans cette reconstruction phylogénétique des *Borasseae* étaient composés de deux gènes nucléaires (*PRK* et *RPB2*) et 5 gènes chloroplastiques (*atp*B-*rbc*L, *rbc*L, *rps*16, *trn*D-*trn*T and *trn*L-*trn*F) (Bayton 2005). L'auteur a daté l'arbre phylogénétique à l'aide des points de calibration fossiles, géologiques, et secondaires pour la sous-famille des Coryphoïdeae et pour la tribu des *Borasseae*. D'après l'auteur le genre *Borassus* a divergé du genre *Borassodendron* il y a environ 35 Ma vers la fin de l'Éocène et avec une origine asiatique. Il a été suggéré que *B. madagascariensis* est l'espèce sœur de *B. aethiopum*. Selon l'auteur, cette divergence et la diversification du genre *Borassus* ne peuvent être corrélées avec la rupture de l'ancien continent, mais plutôt en lien avec les variations climatiques survenues au début du Tertiaire et

caractérisées par des alternances de périodes glaciaires et interglaciaires (Linder 2003; Bayton 2005).

Quelques années plus tard, les mêmes marqueurs ont été utilisés par Bellot et *al*. (2020) pour analyser l'évolution de la taille des graines au sein des Borasseae. Ces auteurs ont daté l'arbre phylogénétique en utilisant trois points de calibration fossile (*Sabalites carolinensis* pour le noeud des Coryphoïdeae ; Sabaleae pour le nœud couronne Sabal – *Coccothrinax* ; *Hyphaenocarpon indicum* pour le nœud couronne des *Hyphaeneae*) (Berry, 1914; Cano, 2018; Matsunaga et al. 2019; Manchester et al. 2010; Bellot et al. 2020). Les résultats de ces travaux proposent que le genre *Borassus* ait également divergé du genre *Borassodendron* il y a environ 26 Ma et que le genre *Borassus* est monophylétique. Cependant, le sens de diversification des espèces du genre *Borassus* reste ambigu bien qu'une origine asiatique a été identifiée pour ce genre. La diversification de ce genre précisément entre Madagascar et l'Afrique continentale pour les espèces présentes en Afrique et au Madagascar (*B. akeassii*, *B. aethiopum* et *B. madagascariensis*) reste non déterminée bien que les auteurs aient identifié deux événements de migration au cours du temps (Bellot et al. 2020). Ces résultats sont quelque peu non concordants avec ceux de Bayton (2005) sur la position des individus de *Borassus aethiopum* par rapport aux espèces *B. madagascariensis* et *B. akeassii* dans l'arbre phylogénétique et rendent donc ambigu le sens de migration entre l'Afrique et le Madagascar.

Ces dernières années, grâce à l'avancée des techniques de capture de gènes ciblés avec des baits (ou appâts, ce sont des oligonucléotiques permettant de capturer des fragments d'ADN génomiques spécifiques) spécifiques et des techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS), nous disposons aujourd'hui de nouveaux marqueurs nucléaires spécifiques aux palmiers qui sont des lots de bait spécifique (Par exemple les baits de Heyduk et al. 2016) pour les analyses de phylogénie moléculaire (Rohland et Reich 2012; Heyduk et al. 2016; de La Harpe

et al. 2019; Johnson et al. 2019). Chez les palmiers, ces marqueurs moléculaires spécifiques obtenus par ces méthodes, ont déjà été utilisés dans plusieurs études de phylogénie et biogéographie pour élucider les relations taxonomiques et spatio-temporelles dans plusieurs genres de palmiers (Heyduk et al. 2016; Comer et al. 2016; Helmstetter, Buggs, et Lucas 2019; Helmstetter et al. 2020; Escobar et al. 2019; Loiseau et al. 2019 ; Kuhnhäuser et al. 2021). De plus, l'utilisation des marqueurs nucléaires spécifiques aux palmiers s'est avérée très efficaces pour résoudre les relations taxonomiques et spatio-temporelle au sein de la famille et entre les espèces (Heyduk et al. 2016 ; Helmstetter et al. 2020 ; Loiseau et al. 2019 ; Escobar et al, 2021). Afin de tenter de résoudre les lacunes de connaissance sur les relations taxonomiques au sein du genre *Borassus*, nous pouvons donc utiliser ces nouvelles méthodes pour élucider les relations phylogénétiques qui restent ambigu au sein de ce genre de palmier.

Cette avancée technologique, qui favorise le développement de nouveaux marqueurs spécifiques pour les analyses phylogénétiques s'accompagne de la disponibilité de nouveaux fossiles de palmiers qui s'ajoutent aux données fossiles existantes et utilisées dans les travaux précédents sur la phylogénie chez les palmiers (Couvreur, Forest, et Baker 2011; Baker et Couvreur 2013; Matsunaga et al. 2019; Bellot et al. 2020; Gauthier 2021). Ces nouveaux fossiles permettent de dater les événements de spéciations et ainsi reconstruire l'histoire biogéographie chez les palmiers en général (Escobar et al. 2019; Morlon, Hartig, et Robin 2020; Escobar et al. 2021) et au sein du genre *Borassus* en particulier. D'après plusieurs auteurs (Bouckaert et al. 2019 ; Escobar et al. 2020 ; Helmstetter et al. 2020) le temps de spéciation et les phénomènes de divergence des espèces peuvent être retracés spécifiquement grâce à la phylogénie datée. Malgré la disponibilité de nouvelles données, le genre *Borassus* a reçu peu d'attention et des confusions persistent sur le sens de la diversification de ces espèces.

Le genre *Borassus* est cependant l'un des plus répandus dans le monde, dont la répartition des espèces s'étend de la côte Atlantique Ouest de l'Afrique à la Nouvelle-Guinée à l'Est (Figure 1). Les 5 espèces de ce genre identifiées par Bayton (2005) sont : *Borassus flabellifer* qu'on retrouve en Asie, *Borassus heineanus* localisée en Nouvelle-Guinée, *Borassus madagascariensis* endémique de Madagascar, *Borassus akeassii* distribuée en Afrique de l'Ouest et au Centre et *Borassus aethiopum* endémique des savanes d'Afrique (Bayton 2005; Baker et Dransfield 2016; Ewedje et Stauffer 2018) (figure 2). En Afrique les espèces de *Borasssus* sont caractéristiques des végétations semi-arides, on les retrouve dans les savanes arborées, les savanes boisées, les forêts sèches, à proximité des habitations humaines et des espaces agricoles. À l'exception de *B. heineanus*, les palmiers *Borassus* sont essentiellement héliophiles et fournissent une grande variété de produits importants sur le plan socio-économique, culturel et médicinal pour les populations. Dans leur habitat, les populations des espèces de *Borassus* en Asie comme en Afrique forment soit des peuplements denses à canopée fermée, soit des peuplements plus ouverts de types savanes arborées. Elles interagissent avec plusieurs espèces animales et leur fruit est prisé par les animaux comme par l'homme pour des raisons alimentaires et commerciales. L'une des espèces de ce genre (*Borassus flabellifer)* est connue en Asie comme le palmier aux 801 utilisations et est la troisième espèce de palmier le plus cultivé au monde (Khan et Thomas 2002; Sambou et al. 2002; Bayton 2007). D'après la littérature, trois (*B. flabellifer* et *B. akeassii ; B. aethiopum*) des 5 espèces sont cultivées (Ouédraogo et Guinko 2005; Bayton 2007; Yameogo, Samandoulgou, et Belem 2016).

Dans le présent travail, nous revisitons les relations taxonomiques et estimons les temps de divergence des espèces du genre *Borassus.* De plus, nous avons inféré une brève histoire biogéographique pour le genre *Borassus* en utilisant des données génomiques spécifiques aux palmiers. Par suite des travaux de Bayton (2007) sur la taxonomie et la biogéographie des

*Borasseae* et ceux de Bellot et *al.* (2020), nous supposons une origine du genre *Borassus* vers la fin de l'Oligocène et une diversification au cours du Miocène pour les espèces de ce genre. L'hypothèse formulée ici est que l'origine du genre *Borassus* serait liée à l'aridification survenue à la fin de l'Oligocène (Zacho et al. 2001 ; Bayton, 2005) et favorable à l'expansion des espèces des savanes.



Figure 1 : Carte montrant la présence du genre *Borassus* dans le monde. Les points jaunes représentent les points de présence des différentes espèces du genre *Borassus* obtenue sur la base des observations humaines, matériels échantillonnés et spécimen vivant de 2005 à 2021. Les individus présents en Amérique du Nord et du Sud sont introduits.

Source : https://www.gbif.org/occurrence/map.

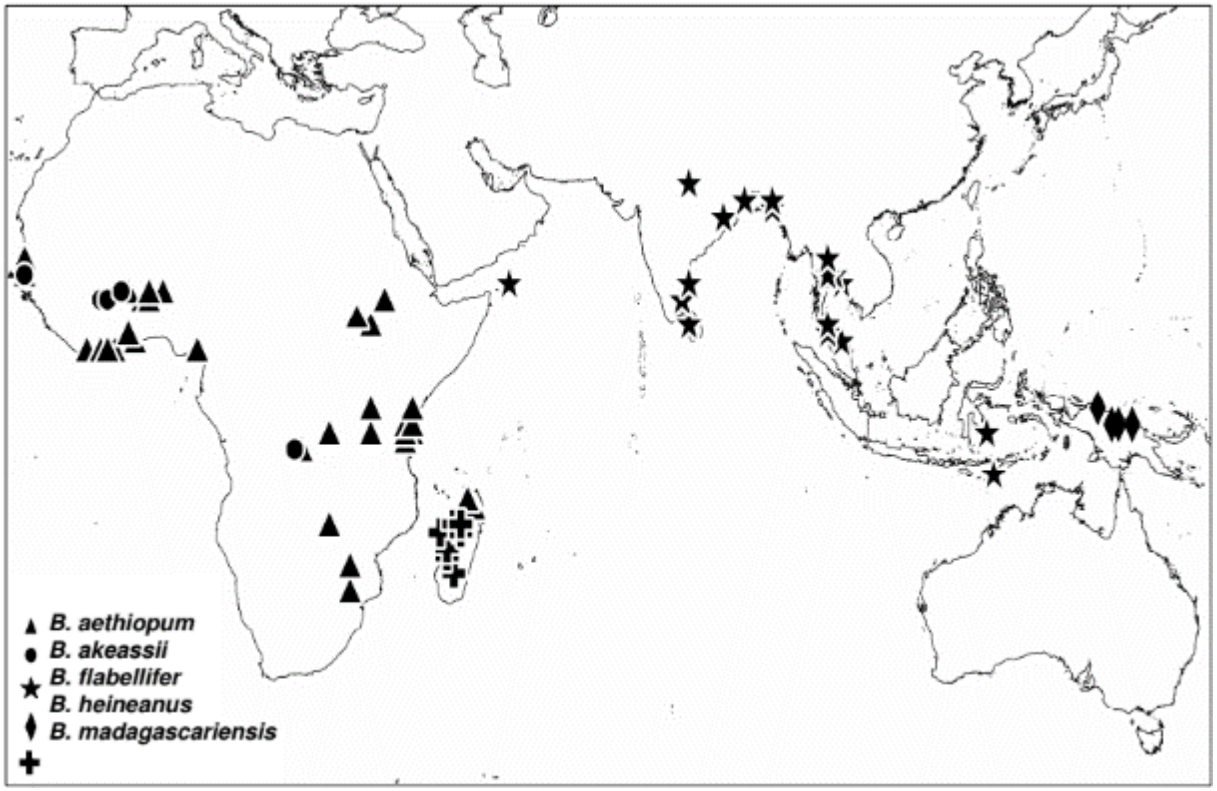


Figure 2 : Répartition des palmiers *Borassus* dans le monde basé sur les données des spécimens d'herbiers

Source : Bayton, 2007.

## 1. Matériel et méthodes

### *1.1. Echantillonnage et extraction d'ADN*

Nous avons constitué un lot d'échantillons inter spécifiques composé des feuilles séchées provenant de spécimens d'herbiers et des informations de séquence sur NCBI (centre américain pour l'information biotechnologique) quand c'était nécessaire afin de s'assurer de l'identité des espèces de palmier présents dans notre collection interspécifique. Ce lot a été complété par des feuilles séchées au gel de silice provenant de notre propre collecte (Tableau 1). Nous avons représenté les espèces du genre *Borassus* par 1 à 7 individus par espèce. Nous avons échantillonné plus d'individus de *B. aethiopum* car dans certains pays comme le Sénégal ou les espèces de *Borassus* coexistent on assiste à une confusion entre ces deux espèces. L'échantillonnage ainsi réalisé de *B. aethiopum* permettra d'identifier si ces individus sont

effectivement des *B. aethiopum* ou non pour la suite de nos travaux. Au sein de la tribu des *Borasseae,* 6 des 7 genres ont été représentés et cette collection a été complétée par 12 espèces supplémentaires représentant les tribus de *Corypheae, Phoeniceae, Podococceae* et *Cocoeae* en tant que groupe extérieur. Au total notre collection interspécifique ainsi constituée est composée de 29 individus dont les 5 espèces de *Borassus* identifiées par Bayton (2007).

L'extraction d'ADN total de notre collection interspécifique a été réalisée par la méthode de séparation MATAB décrite par Faye et al. (2016).

Tableau 1 : Liste de l'échantillonnage interspécifique ; (* : spécimen d'herbier, NCBI : centre américain pour l'information biotechnologique, ID : identifiant).

| ID-séquence | Nom des espèces | Genre | Sous-famille | Pays de collecte | ID des spécimens d'herbiers |
|---|---|---|---|---|---|
| R46_T39 | *Astrocaryum murumuru* | *Astrocaryum* | Arecoideae | | - |
| attalea_ | *Attalea speciosa* | *Attalea* | Arecoideae | NCBI * | Information de séquence |
| R67_T14 | *Borassodendron borneense* | *Borassodendron* | Coryphoïdeae | Malaysia * | Dransfield 5953 (K) |
| R67_T7 | *Borassodendron machadonis* | *Borassodendron* | Coryphoïdeae | Thailand * | Zona 759 (FTG) |
| R67_T11 | *Borassus aethiopum* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Cameroun * | Couvreur, T .L.P. 1144b |
| R67_T24 | *Borassus aethiopum* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Togo * | TC-S1323-Michon L. 35 (G) |
| R67_T25 | *Borassus aethiopum* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Togo * | TC-S1324-Michon L. 48 (G) |
| R66_58 | *Borassus aethiopum* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Sénégal | - |
| R66_60 | *Borassus aethiopum* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Sénégal | - |
| R66_T10 | *Borassus aethiopum* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Bénin | - |
| R66_T11 | *Borassus aethiopum* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Bénin | - |
| R67_T23 | *Borassus akeassii* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Burkina Faso * | Bayton, R. 68 |
| R67_T13 | *Borassus flabellifer* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Thailand * | Wilkin et al. 1160 (K) |
| R67_T10 | *Borassus heineana* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Lae Botanic Garden * | Banka s.n. (K) |
| R67_T19 | *Borassus madagascariensis* | *Borassus* | Coryphoïdeae | Madagascar * | MBC 951139 C |
| R67_T20 | *Chamaerops humilis* | *Chamaerops* | Coryphoïdeae | Espagne * | Pintaud JC 596 (G) |
| R67_T15 | *Cryosophila strauracantha* | *Cryosophila* | Arecoideae | Etat Unis * | Zona S 866 (FTG) |
| R67_T21 | *Hyphaene thebaica* | *Hyphaene* | Coryphoïdeae | Djibouti * | Pintaud JC 643 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| kentiops | *Kentiopsis piersoniorum* | *Kentiopsis* | Arecoideae | NCBI * | Information de séquence |
| R67_T12 | *Latania loddigesii* | *Latania* | Coryphoïdeae | Sidonie Bello (réf) | Bayton 4A (K) |
| R67_T9 | *Lodoicea maldivica* | *Lodoicea* | Coryphoïdeae | Jardin Botanique de Kew * | MWC12356 |
| R67_T18 | *Medemia argun* | *Medemia* | Coryphoïdeae | Soudan * | MBC 971578 C |
| oenocarp | *Oenocarpus bataua* | *Oenocarpus* | Arecoideae | NCBI * | Information de séquence |
| R46_T32 | *Orania ravaka* | *Orania* | Arecoideae | - | - |
| R67_T16 | *Phoenix rupicola* | *Phoenix* | Coryphoïdeae | Inde * | Pintaud JC 610 (G) |
| R67_T32 | *Podococcus_barteri* | *Podococcus* | Arecoideae | Cameroun * | Couvreur, T. L. P. 1159 |
| R67_T17 | *Pritchardiopsis jennencyi* | *Pritchardiopsis* | Coryphoïdeae | Nouvelle-Calédonie * | Pintaud JC 205 (NY, P) |
| reinhard | *Reinhardtia simplex* | *Reinhardtia* | Arecoideae | NCBI * | Information de séquence |
| roystone | *Roystonea regia* | *Roystonea* | Arecoideae | NCBI * | Information de séquence |

### *1.2. Capture de gènes, séquençage et pré-traitement des données*

Les librairies génomiques ont été préparées suivant le protocole Rohland et Reich (2012) en utilisant une approche de capture de gènes ciblés avec un kit d'appât spécifiques au palmier de Heyduk et al. (2016). Ce kit d'appât cible 176 gènes présents chez différentes espèces de palmiers, et représentant 837 exons et un total de 211 939 paires de bases (MyBaits Target Enrichment Kit, Arbor Biosciences, Michigan, USA). L'ADN total de chaque individu a été cisaillé à une taille de 350 pb à l'aide du dispositif de sonication Bioruptor® Pico (Diagenode). L'ADN a été ensuite réparé, ligaturé et entaillé avant d'être amplifié suivant 10 cycles pour la PCR de pré-hybridation. Puis l'ADN a été nettoyé, quantifié et les extraits ont été regroupés dans deux bibliothèques à laquelle nous avons ajouté les appâts marqués à la biotine afin d'hybrider les régions ciblées du lot de sonde utilisé (Heyduk et al. 2016). Ensuite des billes magnétiques enroulées de streptavidine ont été utilisées pour immobiliser les sondes hybridées marquées à la biotine. En présence d'un champ magnétique, le surnageant contenant l'ADN non lié a été jeté. Les fragments d'ADN enrichie capturés ont été élués des billes magnétiques.

Après ajoute des adaptateurs, les fragments ont été amplifiés avec un PCR à temps réel (RT-PCR) pendant 15 cycles pour lier les adaptateurs et constituer les bibliothèques finales. A la suite de cet enrichissement, un séquençage haut débit Illumina MiSeq (v3, paired-end, longueur 150 pb) des banques ainsi obtenues a été effectué comme décrit dans Helmstetter et al. (2020) sur la plateforme du CIRAD de Montpellier, France.

Le prétraitement des données ainsi que les analyses qui ont suivi ont été réalisés sur la plateforme SouthGreen (https://www.southgreen.fr/). Le protocole bio-informatique décrit dans Couvreur et al. (2019) a été utilisé pour filtrer et nettoyer les séquences brutes (raw reads). Le démultiplexage a été effectué avec un seuil 0-mistmatch en utilisant le script demultadapt ( https://github.com/Maillol/demultadapt ). Les adaptateurs ont été localisés et supprimés à l'aide du programme Cutadapt v1.2.1 (Martin 2011) en utilisant les paramètres par défaut. Les séquences ainsi nettoyées ont été filtrées et leur qualité a été contrôlée en utilisant le script suivant:

https://github.com/SouthGreenPlatform/arcad-hts/blob/master/scripts/arcad_hts_2_Filter_Fastq_On_Mean_Quality.pl avec les paramètres suivants : longueur >35 pb et qualité moyenne Q>30. Les séquences (reads) sens et antisens ont ensuite été appariées suivant leur noms dans le fichier fastq en utilisant un script de comparaison adapté de l'outil TOGGLE (Tranchant-Dubreuil et al. 2018). Les 6 derniers nucléotides des séquences anti-sens d'une longueur inférieure à 150 pb ont été supprimés à l'aide du script fastx trimmer qui fait partie du pack 'fastx' ( https://github.com/agordon/fastx_toolkit ).

### *1.3. Analyses phylogénétiques*

#### 1.3.1. Formatage des données

Les données de séquençage obtenues à partir des collections inter et intra spécifique (voir plus haut) ont été, pré-traitées, puis analysées avec le pipeline HybPiper (v1.2) (Johnson et al. 2016) suivant la méthode décrite dans Couvreur et *al*. (2019), en utilisant les paramètres par défaut. En résumé, Le positionnement (mapping) des séquences sur les références (identifiées par Heyduk et al. 2016) a été effectué à l'aide de BWA (v0.7.12) (Li et Durbin 2009), puis l'assemblage des séquences correctement mappées en contig a été réalisé avec SPAdes (v3.11.1) (Bankevich et al. 2012). L'alignement des séquences (supercontigs) a été réalisé à l'aide de MAFFT (v7.305) (Katoh et Standley 2013) avec l'option « --auto » et le nettoyage de ces alignements a été réalisé avec GBLOCKS (v0.91b) (Castresana 2000) en utilisant les paramètres par défaut, et les positions d'espaces autorisées.

Le programme HybPiper détecte aussi les potentiels loci paralogues lorsque plusieurs contigs correspondent à une seule séquence de référence. HybPiper utilise la couverture et l'identité à une séquence référence pour sélectionner la séquence principale et identifie les autres comme paralogues. Pour s'assurer que les loci identifiés sont de vrais paralogues, nous avons construit avec ces loci des arbres de gènes à l'aide de RAxML (v8.2.9; Stamatakis 2014) en utilisant le modèle GTR + G. Ce modèle est couramment utilisé pour les analyses d'ADN car il est mieux adapté pour ces types d'analyses (Alexandros Stamatakis 2016). Le support des nœuds des arbres a été calculé en utilisant l'option '-fa' pour réaliser 100 bootstrap. La cohérence des arbres a été examinée manuellement comme décrit dans Helmstetter et al. (2020) et Couvreur et al. 2019). Si les séquences « principales » et les secondaires forment un clade distinct, on conclut que ce sont de vrai paralogues et l'intégralité du locus est supprimée de la suite des analyses.

### 1.3.2. Inférence phylogénétique et estimation des temps de divergence

A partir de l'ensemble de données interspécifiques, nous avons sélectionnés les exons ayant au moins 75 % de leur longueur reconstituée chez au moins 75 % des individus afin de minimiser les données manquantes et réduire le nombre d'arbres de gène erroné (Sayyari, Whitfield, et Mirarab 2017). Les relations phylogénétiques ont été reconstruites au moyen de deux approches: par coalescence et par l'inférence bayésienne.

La première approche, utilisant la méthode de coalescence, a consisté en la construction d'un arbre phylogénétique d'espèces (« species tree ») à l'aide de ASTRAL-III (v5.6.3) (Zhang et al. 2018). Les alignements issus des critères 75/75 (paralogues supprimés) ont été utilises pour construire des arbres de gènes individuels dans RAxML avec un modèle GTR + GAMMA avec 100 bootstraps et sans aucune partition. Ces arbres de gènes ont ensuite été utilisés pour construire un arbre d'espèces à l'aide de ASTRAL-III. Le nombre de branches a été réduit en éliminant celles pour lesquelles le support <10 et en annotant la probabilité postérieure locale (LPP) comme support de nœud.

Un réseau de voisinage phylogénétique a été construit avec SplitsTree (v4.14.6) (Huson et Bryant 2006) afin de vérifier l'arbre phylogénétique d'espèces obtenu avec ASTRAL-III (v5.6.3) utilisant le même lot d'échantillon. SplitsTree construit les relations phylogénétiques basées sur les distances génétiques entre les différentes espèces de *Borassus*. Tous les arbres phylogénétiques ont été visualisés avec FigTree (v1.4) (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

Dans la deuxième approche, nous avons construit les relations phylogénétiques interspécifiques dans le genre *Borassus* en utilisant l'inférence bayésienne dans BEAST (v2.5.2 ; (Bouckaert et al. 2019) couplé à une datation moléculaire à l'aide de calibration fossile. Nous avons utilisé un paramètre logarithme d'horloge détendue (« relaxed clock log normal ») et défini le taux ou fréquence de l'horloge (« clock rate ») à 0,001 avec la case estimation de la fréquence

(« estimate ») cochée. A l'aide de ModelTest (https://github.com/ddarriba/modeltest) nous avons déterminé le meilleur modèle d'évolution de substitution nucléotidique pour chaque alignement. Nous avons utilisé le modèle de Yule comme à priori (« prior ») de l'arbre interspécifique. Trois points de calibration fossile (*Sabalites carolinensis :* Berry 1914; *Hyphaene kapelmanii* : Pan et al. 2006; *Attaleinae* : Gomez-Navarro et al. 2009) (Tableau 2) ont été utilisés pour estimer les temps de divergence des branches de notre arbre et pour déterminer l'âge de spéciation *de B. aethiopum* et son espèce-sœur. Ces points de calibration fossiles utilisés proviennent du cadre temporel élaboré par Couvreur et al. (2011) et également utilisé dans d'autres études sur les palmiers (Trénel et al. 2007; Escobar et al. 2019; 2021; Helmstetter et al. 2020). Le point de calibration fossile *Hyphaene kapelmanii* (Pan et al. 2006) a été placé à la couronne des *Hyphaene* qui prend en compte le genre *Borassus* (cf Tableau 2). Une distribution exponentielle a été définie pour les points de calibrations fossiles et un a priori monophylétique a été ajouté à la sous-famille car les travaux de Bayton, (2007) avaient déjà identifié la sous-famille des *Coryphoïdeae* comme étant monophylétique. Trois analyses indépendantes de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) ont été effectuées, avec une longueur de chaîne de 100 millions et un échantillonnage toutes les 10 000 générations, la vérification de la taille d'échantillon effective (ESS) supérieure à 200 pour l'ensemble des paramètres étant réalisée à l'aide de Tracer v1.7 (Rambaut et al. 2018). Les résultats des trois analyses ont ensuite été combinés à l'aide de LogCombiner v2.5.2 (Bouckaert et al. 2019) et avec un burn-in de 10 %, puis un arbre consensus a été construit en utilisant TreeAnnotator v2.5.2 (Bouckaert et al. 2019). L'arbre résultant a été visualisé et annoté avec FigTree.

**Tableau 2 :** Liste des données fossiles utilisées pour la datation moléculaire (Couvreur et *al*. 2011).

| Nom de fossile | Borne inférieure rigide (Ma) | Borne supérieure souple (Ma) | Moyenne exponentielle |
|---|---|---|---|
| *Sabalites carolinensis* | 85.8 | 88.8 | 1 |
| *Attaleinae* | 65 | 69.49 | 1.5 |
| *Hyphaene kapelmanii* | 27 | 28.5 | 0.5 |

## 2. Résultats

### *2.1. Inférence Phylogénétique*

Nous avons généré 23,3 millions de séquences brutes à partir des ADN de 24 échantillons de palmier *Borassus* et groupe extérieur à laquelle s'ajoute 5 séquences télécharger sur NCBI (Cf annexe, tableau 1). Le pipeline HybPiper a identifié ici 82 loci qui répondent à notre critère de filtre 75/75 dont 14 séquences paralogues qui ont été supprimées réduisant notre ensemble de données à 68 supercontigs.

L'arbre coalescent ASTRAL résultant a regroupé toutes les espèces du genre *Borassus* en un seul groupe monophylétique. Les espèces de *Borassus* d'Asie (*B. heineanus* et *B. flabellifer*) sont les premiers à avoir divergé du genre *Borassodendron*. Les individus de *Borassus aethiopum* collectés au Sénégal ont constitué un clade distinct avec l'espèce *Borassus akeassii* de notre collection avec une valeur élevée de la probabilité postérieure locale qui supporte le nœud (pp = 1). Tous les autres individus de *Borassus aethiopum* formaient un seul clade distinct avec les espèces de *Borassus* collectés au Togo et au Cameroun (spécimens d'herbier). L'espèce

de *Borassus* la plus proche de ce clade formé par les *Borassus aethiopum* était l'espèce *Borassus madagascariensis* (Figure 3).

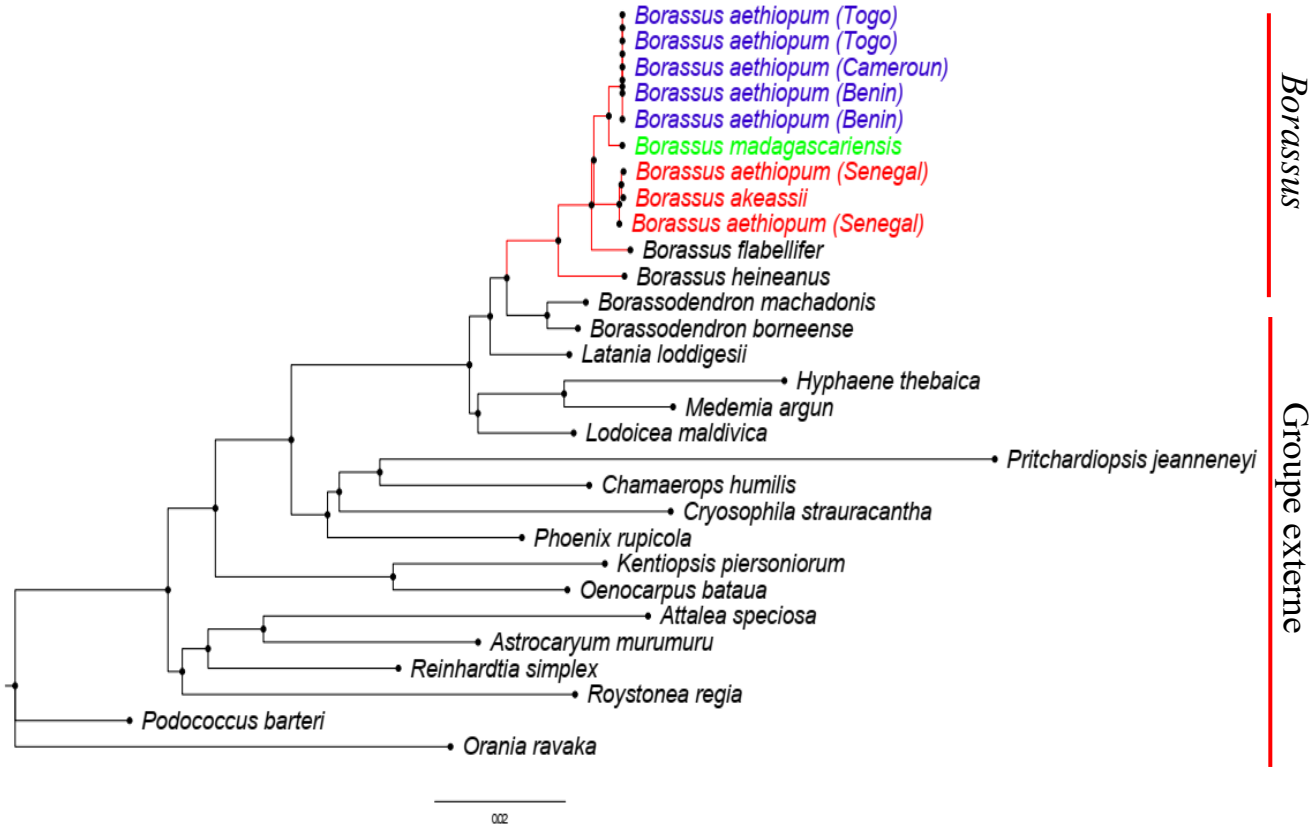


Figure 3 : Arbre phylogénétique du genre *Borassus* obtenu avec ASTRAL-III montrant les relations interspécifiques entre les espèces du genre *Borassus* avec des probabilités postérieures locale comme support de nœud (LPP = 1). La coloration rouge identifie les espèces de *Borassus* aethiopum du Sénégal formant un clade distinct avec *Borassus akeassii*. En bleu, tous les individus de *Borassus aethiopum* formant un clade distinct. En vert *Borassus madagascariensis* se dégageant comme espèce sœur de *Borassus aethiopum*. L'arbre a été enraciné avec les espèces les plus éloignées du groupe externe.

L'arbre phylogénétique basé sur les distances génétiques entre les différentes espèces construit avec SplitTree (Figure 4) confirme l'existence d'un clade composé des individus de *Borassus aethiopum* échantillonnés au Sénégal et le spécimens d'herbier de *Borassus akeassii* présent

dans notre collection interspécifique. Ce clade ainsi formé est nettement distinct à la fois du clade formé par la totalité des autres individus de *B. aethiopum* provenant du Bénin, du Togo et du Cameroun et de *B. madagascariensis* (Figure 4).

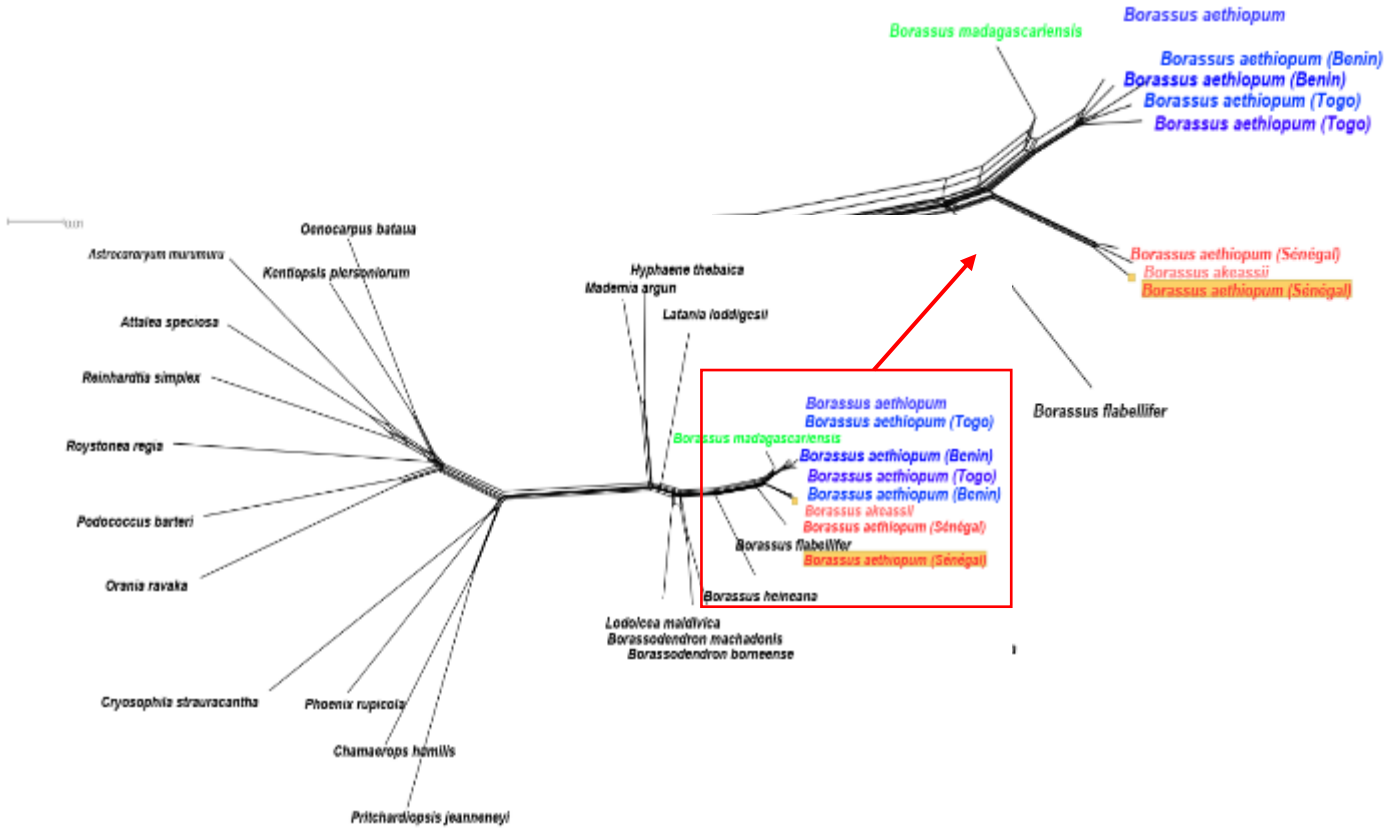


Figure 4 : Arbre phylogénétique du genre *Borassus* basé sur la matrice des distances génétiques réalisé avec SplitTree. La coloration rouge indique les individus *Borassus aethiopum* collectés au Sénégal formant un clade avec *Borassus akeassii* de notre collection inter spécifique. La coloration verte indique l'espèce *Borassus madagascariensis.* La coloration bleue met en évidence les espèces de *Borassus aethiopum* de différents pays et l'individu *B. aethiopum* de notre collection interspécifique. Le cercle rouge et la flèche indiquent la partie de l'arbre mise en évidence qui rassemble toutes les espèces du genre *Borassus.*

### *2.2. Inférence Phylogénétique et estimation des temps de divergence*

En ce qui concerne la phylogénie du genre datée réalisée avec BEAST-II, tous les nœuds au sein du genre *Borassus* ont montré une probabilité postérieure égale à 1 (pp = 1) au niveau de l'arbre daté avec des fossiles de palmier. Ce qui traduit une bonne fiabilité pour les relations phylogénétiques établies et l'estimation des temps de divergence (Figure 5) des espèces du genre *Borassus*. Le nœud couronne du genre *Borassus* a divergé du genre *Borassodendron* il y a 24,4 Ma (95 % HPD = 22,4 – 27,11 Ma) et forme un groupe monophylétique. L'espèce *Borassus heineanus* localisée en Papouasie est la plus ancienne de ce genre et a divergé il y a 16,21 Ma (95 % HPD = 14,69 – 18,37 Ma). L'espèce d'Asie *Borassus flabellifer* a divergé de son homologue d'Asie il y a 7,85 Ma (95 % HPD = 6,93 – 9,93 Ma). Les espèces *Borassus aethiopum* et *Borassus madagascariensis* sont les plus récentes parmi celles du genre et ont divergé de leur homologue africain *Borassus akeassii* il y a 5,66 Ma (95 % HPD : 2,54 – 3,63 Ma). L'espèce de *Borassus* endémique au Madagascar (*B. madagascariensis*) se présente comme l'espèce-sœur de *B. aethiopum* et a divergé il y a 3,05 Ma. En outre, les deux espèces de *Borassus* d'Asie (*B. flabellifer et B. heineanus*) sont sœurs des espèces africaines.

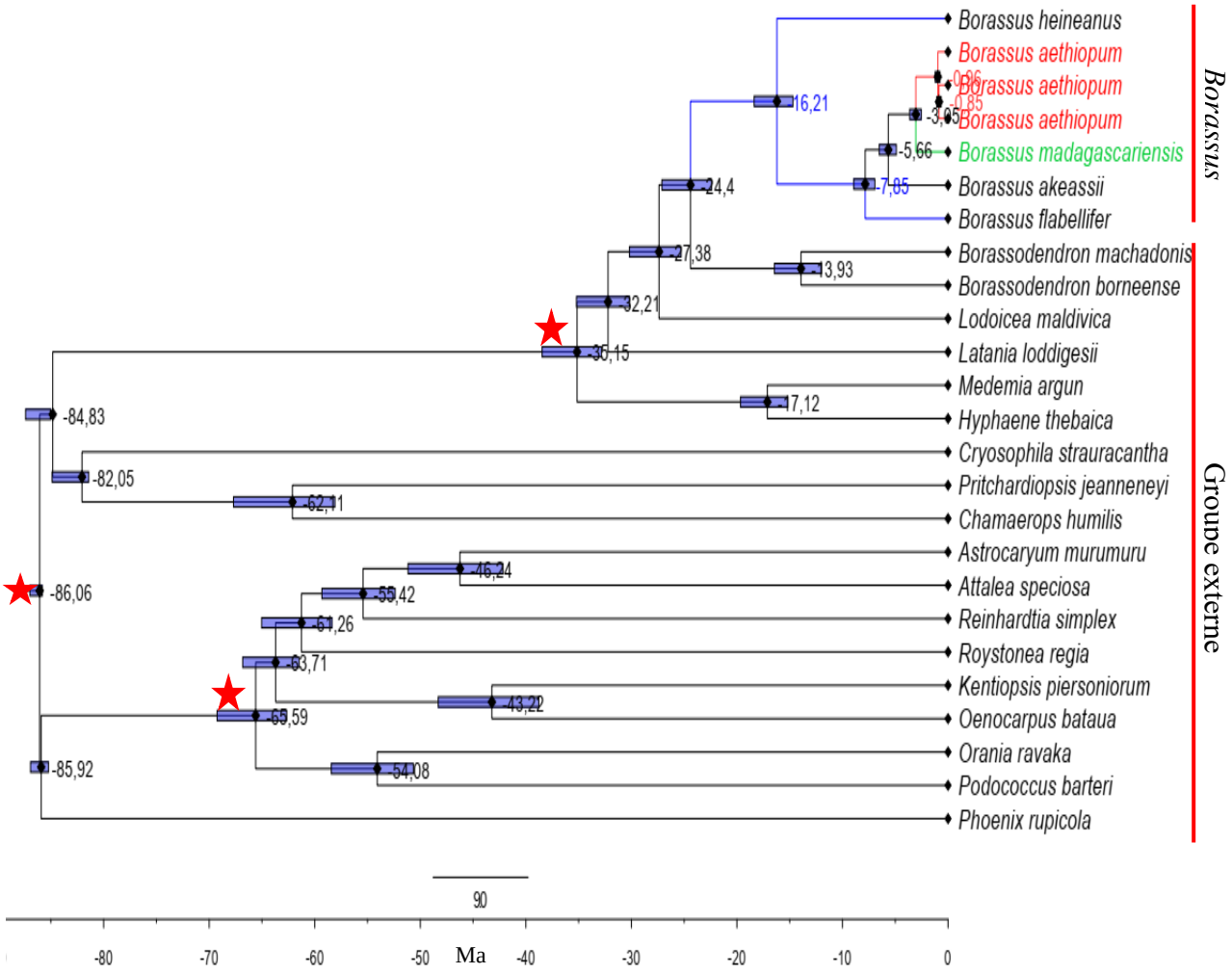


Figure 5 : Arbre phylogénétique daté du genre *Borassus*. L'arbre a été généré en utilisant 32 gènes présentant une horloge moléculaire stricte et à l'aide de l'inférence bayésienne dans BEAST. Les lignes bleues sur les nœuds couronnes représentent les densités postérieures élevées (95 % HDP). Les étoiles rouges indiquent les points de calibration fossile pour la datation moléculaire de l'arbre (Tableau 2). Les nœuds couronnes sont supportés par des valeurs de probabilité postérieure qui varie de : pp = 0,95 – 1.

## 3. Discussion

### *3.1. Relation phylogénétique au sein du genre Borassus*

Nous avons reconstruit les relations phylogénétiques au sein du genre *Borassus* en utilisant deux approches distinctes avec des gènes nucléaires (Figure 3 et 5). Ces travaux représentent la

première reconstruction phylogénomique du genre *Borassus* utilisant exclusivement des marqueurs nucléaires obtenus grâce aux techniques modernes de capture de gène ciblé. Nos résultats (Figure 3 et 5) suggèrent que le genre *Borassus* est un clade monophylétique et à divergé du genre *Borassodendron* comme identifié dans les reconstructions phylogénétiques précédentes sur la tribu des *Borasseae* et des palmiers à grosses graines (Bayton, 2007 ; Bellot et al. 2020). Les 5 espèces du genre *Borassus* se distinguent donc nettement des autres espèces de la tribu des *Borasseae* comme défini par Bayton (2007) dans sa reconstruction taxonomique en utilisant des marqueurs chloroplastiques, nucléaires et morphologiques. Les figure 3 et 5 suggèrent une origine asiatique pour le genre *Borassus* avec l'espèce *Borassus heineanus* originaire de la Papouasie comme la plus ancienne. D'après Bayton (2007) *Borassus heineanus* étant la plus ancienne espèce du genre *Borassus* et donc la plus proche du genre *Borassodendron*, ceci justifierait sa ressemblance morphologique avec les espèces du genre *Borassodendron* (Zachos et al. 2001; Bayton 2007). La divergence entre *B. flabellifer* et *B. heineanus* pourrait être la conséquence d'une spéciation allopatrique car les deux espèces d'Asie de ce genre sont toutes présentes en Indonésie. Par contre *B. heineanus* est la seule espèce du genre que l'on retrouve en forêt humide (Beccari, 1914, 1924, Bayton, 2007), caractère qui le rapproche encore aux espèces du genre *Borassodendron*. Il faut aussi rappeler que *B. flabellifer* est la troisième espèce de palmier la plus cultivée au monde derrière le palmier à huile et le cocotier ce qui pourrait avoir favorisé son expansion en Asie (Beccari, 1914 ; Bayton, 2007). Cependant, *B. flabellifer* a été la première espèce décrite de ce genre par les botanistes à partir de critère morphologique. *B. flabellifer* était abusivement considérée comme la plus ancienne de ce genre et l'identification de toutes les autres espèces du genre y sont associées. A cause de la proximité morphologique et les caractéristiques écologiques, *B. heineanus* était considéré comme une espèce du genre *Borassodendron* (Beccari, 1924 ;

Bayton, 2007). La position de *B. akeassii* dans nos arbres (figure 3 et 5) suggère que cette espèce à divergé de *Borassus flabellifer* et donc est la première espèce africaine du genre *Borassus* (Figure 3 et 5). Ces observations sont similaires avec celles de Bayton (2007) mais ne concordent pas avec les descriptions botaniques des espèces de *Borassus* faites jusqu'en 1996 où Ake Assi et Guinko identifient l'espèce *Borassus akeassii* comme une nouvelle espèce d'Afrique de l'Ouest. Cette description a été soutenue plus tard par Ouedraogo (2002) et Arbonner (2002) puis confirmée par Bayton dans sa révision taxonomique du genre *Borassus* en 2005. Cependant l'espèce *Borassus akeassii* continue d'être confondu au *Borassus aethiopum* dans plusieurs localités où ces deux espèces sont présentées comme au Burkina Faso et au Sénégal (Cabannes et Chantry 1967; Bayton et Ouédraogo 2009; Ake Assi et Guinko 1996; Bayton 2007; Yameogo, Samandoulgou, et Belem 2016). La position de l'espèce *Borassus madagascariensis* dans nos arbres phylogénétiques (figure 3 et 5) révèle que cette espèce est l'espèce sœur du rônier africain *B. aethiopum* et qu'il a divergé de *B. akeassii*. Cette position de *B. madagascariensis* est similaire à celle obtenue par Bayton (2007) mais différente des résultats de Bellot et al. (2020) qui identifie *B. madagascariensis* dans un même groupe avec *B. aethiopum* du Kenya. D'après la figure 3, cinq des sept individus de *Borassus aethiopum* présents dans notre collection se rassemblent en un seul clade et se positionne comme la dernière espèce du genre ayant divergé de *Borassus madagascariensis*. En ce qui concerne le palmier, rônier le plus répandu en Afrique (*Borassus aethiopum*), nos résultats (figure 3 et 5) suggèrent que cette espèce a divergé de *Borassus madagascariensis* ce qui place ce dernier comme l'espèce sœur de *B. aethiopum*. Ces résultats soutiennent ceux de Bayton (2007) mais ne concordent pas avec l'arbre phylogénétique daté obtenu par Bellot et al. (2020) qui place *B. madagascariensis* comme paraphylétique par rapport à *B. aethiopum*. L'analyse

morphologique réalisée par Bayton (2007) soutient nos résultats, car cet auteur note d'importantes ressemblances entre *B. madagascariensis* et *B. aethiopum* (Bayton, 2007).

Il ressort de l'analyse de nos résultats (Figure 3 et 4) que les individus collectés au Sénégal seraient en réalité des *Borassus akeassii* et sont abusivement considérés comme des individus de *B. aethiopum* par les populations locales. Ceci serait dû notamment à une mauvaise identification de ces deux espèces dans la littérature (Giffard 1967; Cabannes et Chantry 1967; Assi et Guinko 1996). Ces résultats (Figure 3 et 4) qui sont confirmés par notre arbre phylogénétique basé sur les distances génétiques (Figure 4) apporte l'affirmation sur des bases moléculaires que *B. akeassii* est effectivement présent au Sénégal et distribuée dans plusieurs localités du pays (Cf annexe, tableau 2). De pareilles observations avaient déjà été faites à partir d'analyse de critères morphologiques par Bayton et Ouedraogo (2009) mais n'ont pu être appuyées par des résultats d'analyses moléculaires. De plus l'aire de distribution totale de *Borassus akeassii* n'a pas encore été très bien déterminée et par endroit cette espèce continue d'être confondue au *B. aethiopum* par les populations locales comme le cas au Sénégal (Bayton et Ouédraogo, 2009 ; Yameogo et *al*. 2016). Cependant d'après les résultats des travaux de Bayton (2007) sur les caractéristiques morphologiques, ces deux espèces (*B. aethiopum* et *B. akeassii*) se distinguent nettement par la forme et la couleur des fruits et bien d'autres caractères morphologiques. Il serait intéressant de réaliser une caractérisation moléculaire des palmiers *Borassus* rencontrés au Sénégal avec un échantillonnage plus large pour identifier sur une base moléculaire les espèces de *Borassus* présent au Sénégal. L'utilisation exclusive de marqueurs nucléaires issus de technique de capture de gène ciblé couplée au séquençage haut débit nous ont permis de retracer les relations phylogénétiques au sein du genre *Borassus*. Cependant en raison de la disponibilité de nouveaux marqueurs moléculaires et l'évolution des outils

d'analyses bio-informatiques qui offrent une plus grande capacité d'analyse de données, il serait intéressant de revisiter la taxonomie du genre *Borassus* avec plus de données.

### *3.2.* Estimation des temps de divergence

L'analyse de l'estimation des temps de divergence à partir de notre arbre phylogénétique daté (Figure 5) suggère que le genre *Borassodendron* serait le genre sœur du genre *Borassus* avec une divergence intervenue entre ces deux genres vers la fin de l'Oligocène (33,9 ± 0,1 à 23,03 ± 0,05) et au début du Miocène (23,5 - 5,3 Ma) il y a environ 24,4 Ma (95 % HPD = 22,4 – 27,11 Ma). Ces résultats rejettent également l'hypothèse selon laquelle la divergence des *Borasseae* pourrait être reliée à la rupture de l'ancien continent du Gondwana (158 – 160 Ma) et de son isolement géographique introduite par Dransfield (1988). Cependant, nos résultats sont similaires à ceux de Bayton (2007) et soutiennent l'hypothèse selon laquelle la diversification des espèces *Borassoïdes* pourrait être reliée à l'aridification survenue à la fin de l'Oligocène (Bayton, 2005). Cette période est caractérisée par une augmentation des températures accompagnée d'une augmentation du niveau des mers dûe à la fonte des calottes glacières et est située à la fin de l'Oligocène tardive (Zachos et al., 2001 ; Bayton, 2005). La flagrante ressemblance morphologique de *B. heineanus* et les espèces du genre *Borassodendron* laissent penser que les espèces du genre *Borassus* auraient déjà divergées à cette période (Bayton, 2007). D'après Edwards et al. (2002) les palmiers Borassoïdes étaient adaptées aux environnements secs et se sont adaptées progressivement vers des formes de forêt (*Lodoicea, Borassodendron, Borassus heineanus, Satranala*) suivies d'une inversion vers les espèces de savane. Cette hypothèse est soutenue par le fait qu'au cours du Miocène (23,5 - 5,3 Ma) d'après Zachos et *al*. (2001) le climat était devenu plus aride suite à une diminution des températures. D'après notre phylogénie datée (Figure 5), la diversification de 3 (*B. heineanus* ; *B. flabellifer* ;

*B. akeassii*) des 5 espèces du genre *Borassus* se sont déroulées au cours du Miocène. Cette diversification a commencé au milieu du Miocène (23,5 - 5,3 Ma) par la spéciation, il y a 16,21 Ma (95 % HPD = 14,69 - 18,37 Ma) de la plus vieille espèce de ce genre (*B. heineanus*) (Figure 4). Cette période correspond à la grande période d'expansion des savanes de type prairie et végétation ouverte en Afrique comme un peu partout dans le monde rapporté par plusieurs auteurs (Beerling et Osborne 2006; Polissar et al. 2019; Boom 2021). Linder (2003) identifie également cette période d'aridification du Miocène comme la grande période aride au cours de laquelle les écosystèmes de savane et de prairie se sont développés dans le monde entier. Ceci pourrait avoir favorisé la spéciation et la dispersion des espèces de *Borassus* de l'Asie vers l'Afrique il y a environ 5,66 Ma (95 % HDP : 4,9 - 6,52 Ma) par voie terrestre ou par les océans. Cette diversification pourrait être associée à un événement de vicariance et pourrait être à l'origine de l'apparition de *B. akeassii* vers la fin du Miocène (23,5 - 5,30 Ma) il y a 5,66 Ma (95 % HDP : 4,9 – 6,52 Ma) sur le continent africain (Figure 4). Ce phénomène de vicariance pourrait avoir été favorisé par les séries de période d'aridification du climat qui a favorisé la diversification des espèces héliophiles. D'après Couvreur et al. (2021), l'aridification accrue depuis l'Eocène supérieur a fortement contribué au paysage de la biodiversité actuelle en Afrique en fournissant des opportunités de diversification. En Afrique les facteurs climatiques représentent l'un des principaux facteurs qui gouvernent la distribution des espèces de palmier sur le continent (Blach-Overgaard et al. 2010a). En ce qui concerne les deux autres espèces du genre *Borassus* (*B. madagascariensis* et *B. aethiopum*), l'analyse de nos résultats (Figure 4) suggère une première diversification du genre *Borassus* de l'Afrique continentale vers Madagascar il y a environ 5,66 Ma donnant *B. madagascariensis* ; puis une deuxième fois de Madagascar vers l'Afrique il y a 3,05 Ma (95 % HDP : 2,54 - 3,63 Ma). Ces résultats soutiennent ceux de Bayton (2007) et apportent de précision par rapport aux deux phénomènes

de divergence du genre *Borassus* entre Madagascar et l'Afrique identifiés par Bellot et al. (2020). Cependant la position de *B. madagascariensis* dans le clade des palmiers à grosses graines identifiée par Bellot et al. (2020) ne s'accorde pas avec notre arbre phylogénétique daté, ni celui de Bayton (2007). L'une des hypothèses qui pourrait expliquer le phénomène de spéciation entre ces deux espèces est que ce phénomène pourrait être dû à une spéciation allopatrique (Siebert et Struwig 2019). Ce modèle de spéciation est reconnu comme étant la plus courante en Afrique et reste le modèle de spéciation la plus identifiée pour justifier la diversification de plusieurs espèces végétales en Afrique (Couvreur et al. 2021). Elle a été cependant sous le contrôle des fluctuations climatiques passées et la disponibilité des conditions favorables. La deuxième explication proposée serait liée au moyen de dispersion des graines des espèces de *Borassus* qui sont assurées par les gros mammifères tels que l'éléphant et l'Homme (Salako et al. 2018; Siebert et Struwig 2019; Gauthier 2021). D'après Bellot et al. (2020), la dispersion des *Borassus* entre l'Afrique et Madagascar serait par voie océanique et qui aurait engendré les trois espèces africaines et malgaches (*B. akeassii*, *B. aethiopum* et *B. madagasacriensis*). Cependant l'absence d'échantillons d'espèces de *Borassus* africain de l'Est et du Sud du continent ne permet pas de préciser d'où est réellement partie la dispersion du genre *Borassus* de l'Afrique vers Madagascar. La disponibilité de deux nouveaux fossiles (Matsunaga et al. 2019; Siebert et Struwig 2019) récemment découverts pour les *Borasseae* implique un besoin de revisiter la biogéographie du genre *Borassus* pour confirmé nos résultats et mieux comprendre l'évolution dans le temps de ce genre de palmier (Matsunaga et al. 2019; Siebert et Struwig 2019).

**Conclusion**

Nous présentons ici la première étude phylogénomique du genre *Borassus* utilisant exclusivement des gènes nucléaires pour l'inférence phylogénétique et biogéographique. Dans ces travaux, nous avons revisité les relations phylogénétiques au sein du genre *Borassus* puis daté l'évolution de la diversification des palmiers *Borassus*. En résumé nous avons identifié une origine asiatique au genre *Borassus* avec une divegence du genre situé à la fin de l'Oligocène il y a environ 24,4 Ma. *Borassodendron* est le genre sœur du genre *Borassus*. La diversification au sein du genre *Borassus* s'est déroulée au cours du Miocène (23,5 - 5,3 Ma) et a été favorisée par les fluctuations climatiques survenues au cours de cette époque notamment pendant les périodes d'aridification du climat. Deux périodes de migration ont été identifiées entre l'Afrique et Madagascar et *B. madagascariensis* serait l'espèce sœur de *B. aethiopum*. Nous apportons également dans ces travaux l'affirmation sur des bases moléculaires de la présence effective de *B. akeassii* au Sénégal. Les résultats de nos travaux apportent davantage d'information sur l'évolution des espèces du genre *Borassus* et le rôle prépondérant joué par les fluctuations climatiques passées sur la diversification des espèces de ce genre. Cependant, la découverte récente de nouveau fossile plus ancien pour les *Borasseae* rend nécessaire de nouvelles études sur ce genre de palmier avec un échantillonnage plus large.

## Références bibliographiques


Alexandros Stamatakis. 2016. *The RAxML v8.2.X Manual*.

Arbonner, Michel. 2002. *Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique* de l'Ouest.

Assi, L. Aké, et S. Guinko. 1996. « Confusion de deux taxons spécifiques ou subspécifiques au sein du genre Borassus en Afrique de l'Ouest ». In *The Biodiversity of African Plants*, édité par L. J. G. van der Maesen, X. M. van der Burgt, et J. M. van Medenbach de Rooy, 773-79. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0285-5_98.

Baker, William J., et Thomas L.P. Couvreur. 2013. « Global Biogeography and Diversification of Palms Sheds Light on the Evolution of Tropical Lineages. I. Historical Biogeography ». Édité par W. Daniel Kissling. *Journal of Biogeography* 40 (2): 274-85. https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2012.02795.x.

Baker, William J., et John Dransfield. 2016. « Beyond Genera Palmarum: Progress and Prospects in Palm Systematics ». *Botanical Journal of the Linnean Society* 182 (2): 207-33. https://doi.org/10.1111/boj.12401.

Bankevich, Anton, Sergey Nurk, Dmitry Antipov, Alexey A. Gurevich, Mikhail Dvorkin, Alexander S. Kulikov, Valery M. Lesin, et al. 2012. « SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing ». *Journal of Computational Biology: A Journal of Computational Molecular Cell Biology* 19 (5): 455-77. https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021.

Bayton, Ross. 2007. « A Revision of Borassus L. (Arecaceae) ». *Kew Bulletin* 62 (janvier): 561-85.

Bayton, Ross P., et Amadé Ouédraogo. 2009. « Discovering Africa's Newest Palm. » *Palms* 53 (1): 37-45.

Bayton, Ross Patrick. 2005. « BORASSUS L. & THE BORASSOID PALMS: SYSTEMATICS & EVOLUTION », 244.

Beerling, David J., et Colin P. Osborne. 2006. « The Origin of the Savanna Biome ». *Global Change Biology* 12 (11): 2023-31. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01239.x.

Bellot, Sidonie, Ross P. Bayton, Thomas L. P. Couvreur, Steven Dodsworth, Wolf L. Eiserhardt, Maïté S. Guignard, Hugh W. Pritchard, Lucy Roberts, Peter E. Toorop, et William J. Baker. 2020. « On the Origin of Giant Seeds: The Macroevolution of the Double Coconut (Lodoicea Maldivica) and Its Relatives (Borasseae, Arecaceae) ». *The New Phytologist* 228 (3): 1134-48. https://doi.org/10.1111/nph.16750.

« Berry : Les flores du Crétacé supérieur et de l'Éocène... - Google Scholar ». s. d. Consulté le 14 janvier 2022. https://scholar.google.com/scholar_lookup?hl=en&publication_year=1914&author=EW+Berry&title=The+Upper+Cretaceous+and+Eocene+floras+of+South+Carolina+and+Georgia.

Billotte, N., A.M. Risterucci, E. Barcelos, J.L. Noyer, P. Amblard, et F.C. Baurens. 2001. « Development, characterisation, and across-taxa utility of oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) microsatellite markers ». *Genome* 44 (3): 413-25. https://doi.org/10.1139/gen-44-3-413.

Boom, Arthur. 2021. « Diversification, Evolution and Population Dynamics of the Genus Brachystegia, a Keystone Tree of African Miombo Woodlands », septembre. http://hdl.handle.net/2013/ULB-DIPOT:oai:dipot.ulb.ac.be:2013/331717.

Bouckaert, Remco, Timothy G. Vaughan, Joëlle Barido-Sottani, Sebastián Duchêne, Mathieu Fourment, Alexandra Gavryushkina, Joseph Heled, et al. 2019. « BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis ». *PLOS Computational Biology* 15 (4): e1006650. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006650.

CABANNES, Yves, et Guillaume CHANTRY. 1967. « le ronier et le palmier a sucre: production et mise en ouvre dans l'habitat », 3-44.

Cano, Angela. 2018. « What Can Palm Evolution in Time and Space Say about the Historical Assembly of Diversity in the Caribbean and Central America? » University of Geneva. https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:103021.

Castresana, J. 2000. « Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis ». *Molecular Biology and Evolution* 17 (4): 540-52. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334.

Comer, Jason R., Wendy B. Zomlefer, Craig F. Barrett, Dennis Wm Stevenson, Karolina Heyduk, et James H. Leebens-Mack. 2016. « Nuclear Phylogenomics of the Palm Subfamily Arecoideae (Arecaceae) ». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 97 (avril): 32-42. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.12.015.

Couvreur, Thomas L. P., Andrew J. Helmstetter, Erik J. M. Koenen, Kevin Bethune, Rita D. Brandão, Stefan A. Little, Hervé Sauquet, et Roy H. J. Erkens. 2019. « Phylogenomics of the Major Tropical Plant Family Annonaceae Using Targeted Enrichment of Nuclear Genes ». *Frontiers in Plant Science* 9: 1941. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01941.

Couvreur, Thomas LP, Félix Forest, et William J Baker. 2011. « Origin and Global Diversification Patterns of Tropical Rain Forests: Inferences from a Complete Genus-Level Phylogeny of Palms ». *BMC Biology* 9 (1): 44. https://doi.org/10.1186/1741-7007-9-44.

De Vaal. 1985. « Old trading footpaths and wagon roads in the Eastern and Northern Transvaal » Contree 16, 5–15.

Dyer, R.A. 1952. « A note on the distribution of the palms of South Africa with special reference to Borassus in the Transvaal ». *South African Journal of Science*, 48, 215-20.

Edwards P.J, J. Kollmann, et K. Fleischmann. 2002. « Life history evolution in Lodoicea maldivica (Arecaceae) », 2002, Nordic Journal of Botany édition.

Escobar, Sebastián, Thomas Couvreur, Rommel Montúfar, et Henrik Balslev. 2019. « The Ivory Palm Phytelephas aequatorialis in Western Ecuador » 63 (mai): 69-79.

Escobar, Sebastián, Andrew J. Helmstetter, Scott Jarvie, Rommel Montúfar, Henrik Balslev, et Thomas L. P. Couvreur. 2021. « Pleistocene Climatic Fluctuations Promoted Alternative Evolutionary Histories in Phytelephas Aequatorialis, an Endemic Palm from Western Ecuador ». *Journal of Biogeography* n/a (n/a). https://doi.org/10.1111/jbi.14055.

Ewedje, Eben-Ezer, et Fred W Stauffer. 2018. « Purpose Palm in Togo and Benin » 62: 13.

Faye, A., V. Deblauwe, C. Mariac, D. Richard, B. Sonké, Y. Vigouroux, et T.L.P. Couvreur. 2016. « Phylogeography of the Genus Podococcus (Palmae/Arecaceae) in Central African Rain Forests: Climate Stability Predicts Unique Genetic Diversity ». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 105 (décembre): 126-38. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.08.005.

Gauthier, Yves. 2021. « On the Presence and Distribution of Borassus Aethiopumduring the Holocene: A Rock Art Evidence from Ennedi (Northern Chad) ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 292 (septembre): 104477. https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2021.104477.

GIFFARD, Pierre Louis. 1967. « LE PALMIER RONIER BORASSUS AETHIOPUM MART. » *Revue bois et foret des tropique*, nº 116: 3-13.

Helmstetter, Andrew J., Biowa E. N. Amoussou, Kevin Bethune, Narcisse G. Kandem, Romain Glèlè Kakaï, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2019. « Phylogenomic Data Reveal How a Climatic Inversion and Glacial Refugia Shape Patterns of Diversity in an African Rain Forest Tree Species ». *BioRxiv*, octobre, 807727. https://doi.org/10.1101/807727.

Helmstetter, Andrew J., Suzanne Mogue Kamga, Kevin Bethune, Thea Lautenschläger, Alexander Zizka, Christine D. Bacon, Jan J. Wieringa, et al. 2020. « Unraveling the Phylogenomic Relationships of the Most Diverse African Palm Genus Raphia (Calamoideae, Arecaceae) ». *Plants* 9 (4): 549. https://doi.org/10.3390/plants9040549.

Heyduk, Karolina, Dorset W. Trapnell, Craig F. Barrett, et Jim Leebens-Mack. 2015. « Phylogenomic analyses of species relationships in the genus Sabal (Arecaceae) using targeted sequence capture ». *Biological Journal of the Linnean Society* 117 (1): 106-20.

———. 2016. « Phylogenomic analyses of species relationships in the genus Sabal (Arecaceae) using targeted sequence capture ». *Biological Journal of the Linnean Society* 117 (1): 106-20. https://doi.org/10.1111/bij.12551.

Huson, Daniel H., et David Bryant. 2006. « Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies ». *Molecular Biology and Evolution* 23 (2): 254-67. https://doi.org/10.1093/molbev/msj030.

Johnson, Matthew G., Elliot M. Gardner, Yang Liu, Rafael Medina, Bernard Goffinet, A. Jonathan Shaw, Nyree J. C. Zerega, et Norman J. Wickett. 2016. « HybPiper: Extracting Coding Sequence and Introns for Phylogenetics from High-Throughput Sequencing Reads Using Target Enrichment ». *Applications in Plant Sciences* 4 (7): 1600016. https://doi.org/10.3732/apps.1600016.

Johnson, Matthew G, Lisa Pokorny, Steven Dodsworth, Laura R Botigué, Robyn S Cowan, Alison Devault, Wolf L Eiserhardt, et al. 2019. « A Universal Probe Set for Targeted Sequencing of 353 Nuclear Genes from Any Flowering Plant Designed Using k-Medoids Clustering ». *Systematic Biology* 68 (4): 594-606. https://doi.org/10.1093/sysbio/syy086.

Katoh, Kazutaka, et Daron M. Standley. 2013. « MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability ». *Molecular Biology and Evolution* 30 (4): 772-80. https://doi.org/10.1093/molbev/mst010.

Khan, H. H., et J. R. Thomas. 2002. « Palmyrah Palm: The State Tree of Tamil Nadu ». *Indian Horticulture (India)*. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Palmyrah+palm%3A+the+state+tree+of+Tamil+Nadu&author=Khan%2C+H.H.&publication_year=2002.

Kuhnhäuser, Benedikt G., Sidonie Bellot, Thomas L. P. Couvreur, John Dransfield, Andrew Henderson, Rowan Schley, Guillaume Chomicki, Wolf L. Eiserhardt, Simon J. Hiscock, et William J. Baker. 2021. « A Robust Phylogenomic Framework for the Calamoid Palms ». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 157 (avril): 107067. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.107067.

La Harpe, Marylaure de, Jaqueline Hess, Oriane Loiseau, Nicolas Salamin, Christian Lexer, et Margot Paris. 2019. « A Dedicated Target Capture Approach Reveals Variable Genetic Markers across Micro- and Macro-Evolutionary Time Scales in Palms ». *Molecular Ecology Resources* 19 (1): 221-34. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12945.

Li, Heng, et Richard Durbin. 2009. « Fast and Accurate Short Read Alignment with Burrows-Wheeler Transform ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 25 (14): 1754-60. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324.

Linder, Eric V. 2003. « Exploring the Expansion History of the Universe ». *Physical Review Letters* 90 (9): 091301. https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.90.091301.

Loiseau, Oriane, Ingrid Olivares, Margot Paris, Marylaure de La Harpe, Anna Weigand, Darina Koubínová, Jonathan Rolland, et al. 2019. « Targeted Capture of Hundreds of Nuclear Genes Unravels Phylogenetic Relationships of the Diverse Neotropical Palm Tribe Geonomateae ». *Frontiers in Plant Science* 10: 864. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00864.

Manchester, Steven R., Thomas M. Lehman, et Elisabeth A. Wheeler. 2010. « Fossil Palms (Arecaceae, Coryphoideae) Associated with Juvenile Herbivorous Dinosaurs in the Upper Cretaceous Aguja Formation, Big Bend National Park, Texas ». *International Journal of Plant Sciences* 171 (6): 679-89. https://doi.org/10.1086/653688.

Martin, Marcel. 2011. « Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads ». *EMBnet.Journal* 17 (1): 10-12. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200.

Matsunaga, Kelly K S, Steven R Manchester, Rashmi Srivastava, Dashrath K Kapgate, et Selena Y Smith. 2019. « Fossil palm fruits from India indicate a Cretaceous origin of Arecaceae tribe Borasseae ». *Botanical Journal of the Linnean Society* 190 (3): 260-80. https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz019.

Miller, Duncan, David Killick, et Nikolaas J. van der Merwe. 2001. « Metal Working in the Northern Lowveld, South Africa A.D. 1000–1890 ». *Journal of Field Archaeology* 28 (3-4): 401-17. https://doi.org/10.1179/jfa.2001.28.3-4.401.

Morlon, Hélène, Florian Hartig, et Stéphane Robin. 2020. « Prior Hypotheses or Regularization Allow Inference of Diversification Histories from Extant Timetrees ». https://doi.org/10.1101/2020.07.03.185074.

Ouédraogo, Amadé, et Sita Guinko. 2005. « Usages et enjeux de conservation du rônier (Borassus L.) à l'Est et à l'Ouest du Burkina Faso ». In .

Ouedraogo, Boukary. 2002. *Éléments Économiques pour la Gestion de l'Offre et de la Demande du Bois-énergie dans la Région de Ouagadougou (Burkina Faso)*.

Polissar, Pratigya J., Cassaundra Rose, Kevin T. Uno, Samuel R. Phelps, et Peter deMenocal. 2019. « Synchronous Rise of African C4 Ecosystems 10 Million Years Ago in the Absence of Aridification ». *Nature Geoscience* 12 (8): 657-60. https://doi.org/10.1038/s41561-019-0399-2.

Prinsloo, Linda C., et Philippe Colomban. 2008. « A Raman Spectroscopic Study of the Mapungubwe Oblates: Glass Trade Beads Excavated at an Iron Age Archaeological Site in South Africa ». *Journal of Raman Spectroscopy* 39 (1): 79-90. https://doi.org/10.1002/jrs.1816.

Rambaut, Andrew, Alexei J Drummond, Dong Xie, Guy Baele, et Marc A Suchard. 2018. « Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7 ». *Systematic Biology* 67 (5): 901-4. https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032.

Rohland, Nadin, et David Reich. 2012. « Cost-Effective, High-Throughput DNA Sequencing Libraries for Multiplexed Target Capture ». *Genome Research* 22 (5): 939-46. https://doi.org/10.1101/gr.128124.111.

Salako, Kolawolé Valère, Francisco Moreira, Rodrigue Castro Gbedomon, Frédéric Tovissodé, Achille Ephrem Assogbadjo, et Romain Lucas Glèlè Kakaï. 2018. « Traditional Knowledge and Cultural Importance of Borassus Aethiopum Mart. in Benin: Interacting Effects of Socio-Demographic Attributes and Multi-Scale Abundance ». *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 14 (1). https://doi.org/10.1186/s13002-018-0233-8.

Sambou, Bienvenu, Assane Goudiaby, Finn Ervik, Daouda Diallo, et Mamadou Ciré Camara. 2002. « Palm Wine Harvesting by the Bassari Threatens Borassus Aethiopum Populations in North-Western Guinea ». *Biodiversity and Conservation* 7 (11): 1149-61. https://doi.org/10.1023/A:1016005025090.

Sayyari, Erfan, James B Whitfield, et Siavash Mirarab. 2017. « Fragmentary Gene Sequences Negatively Impact Gene Tree and Species Tree Reconstruction ». *Molecular Biology and Evolution* 34 (12): 3279-91. https://doi.org/10.1093/molbev/msx261.

Siebert, Stefan J., et Madeleen Struwig. 2019. « Borassus Aethiopum Mart. (Arecaceae) in Limpopo Province, with a Key to South African Palms ». *Bothalia* 49 (1): 6. https://doi.org/10.4102/abc.v49i1.2374.

Stamatakis, Alexandros. 2014. « RAxML Version 8: A Tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 30 (9): 1312-13. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033.

Tranchant-Dubreuil, Christine, Sébastien Ravel, Cécile Monat, Gautier Sarah, Abdoulaye Diallo, Laura Helou, Alexis Dereeper, Ndomassi Tando, Julie Orjuela-Bouniol, et François Sabot. 2018. « TOGGLe, a Flexible Framework for Easily Building Complex Workflows and Performing Robust Large-Scale NGS Analyses ». Preprint. Bioinformatics. https://doi.org/10.1101/245480.

Trénel, Philipp, Mats H. G. Gustafsson, William J. Baker, Conny B. Asmussen-Lange, John Dransfield, et Finn Borchsenius. 2007. « Mid-Tertiary Dispersal, Not Gondwanan Vicariance Explains Distribution Patterns in the Wax Palm Subfamily (Ceroxyloideae: Arecaceae) ». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45 (1): 272-88. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.03.018.

Yameogo, Joséphine, Yahaya Samandoulgou, et Mamounata Belem. 2016. « Le rônier (*Borassus akeassii* B.O.G.) dans les parcs agroforestiers à Kokologho, Sakoinsé et Ramongo dans la province du Boulkiemdé, Centre-ouest du Burkina Faso ». *Journal of Applied Biosciences* 100 (1): 9557-66. https://doi.org/10.4314/jab.v100i1.7.

Zachos, James, Mark Pagani, Lisa Sloan, Ellen Thomas, et Katharina Billups. 2001. « Trends, Rhythms, and Aberrations in Global Climate 65 Ma to Present ». *Science* 292 (5517): 686-93. https://doi.org/10.1126/science.1059412.

Zhang, Chao, Maryam Rabiee, Erfan Sayyari, et Siavash Mirarab. 2018. « ASTRAL-III: polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees ». *BMC Bioinformatics* 19 (6): 153. https://doi.org/10.1186/s12859-018-2129-y.

# CHAPITRE 3

## Implication des changements climatiques passés sur l'histoire évolutive du palmier rônier (*Borassus aethiopum*, Mart.) en Afrique de l'Ouest et du Centre

Auteur : Kpatènon M. J., Helmstetter A., Faye A., Jaligot E., Adéoti K., Couvreur T.L.P.

Article en préparation …

**Résumé**

**Contexte :** L'écosystème des savanes africaines est incontestablement un grand réservoir de biodiversité qui a été façonné par les fluctuations climatiques passées notamment ceux du Pléistocène (2,58 – 11,7 ka). En Afrique, l'une des espèces caractéristiques des savanes est le *Borassus aethiopum*, et bien que cette espèce fournit de nombreux services écosystémiques, les mécanismes passés qui ont conduit à l'état actuel de sa distribution dans les savanes d'Afrique restent inconnus. Cependant, de telles informations sont indispensables pour le développement d'une bonne politique de protection et de conservation. Ici, nous allons identifier les lignées génétiques de *B. aethiopum* puis reconstruire l'histoire évolutive de ces lignées génétiques en Afrique de l'Ouest et du Centre à la lumière des changements climatiques du Pléistocène (2,58 – 11,7 ka).

**Matériels et méthodes :** Nous avons constitué un échantillonnage composé de feuille provenant de 69 individus de *B. aethiopum* et un individu de *B. madagascariensis* précédemment identifié comme espèces sœur. Nous avons capturé et séquencé 176 gènes nucléaires spécifiques aux palmiers pour nos analyses de structuration génétique et phylogéographie. La méthode de coalescence a permis d'établir l'histoire évolutive des lignées génétiques de *B. aethiopum* et les temps de divergence entre ces lignées génétiques ont été estimés en calibrant l'arbre phylogénétique résultant avec l'âge de spéciation (3,05 Ma) entre *B. aethiopum* et son espèce sœur.

**Résultat :** Nous avons identifié trois groupes génétiques au sein des populations de *B. aethiopum* d'Afrique de l'Ouest et du Centre. La première lignée génétique regroupe les individus provenant de Burkina Faso, du Nord Bénin et de la Côte d'Ivoire (cluster 1) et a divergé il y a 1,38 Ma. Ce groupe génétique s'est distribué en parallèle vers le Sud du dahomey gap (Cluster 2 : Sud Bénin, Sud Togo) et vers l'Afrique Centrale (cluster 3 : Cameroun) il y a

0,92 Ma au cours du Pléistocène (2,58 – 11700 ans). Les périodes d'expansion des savanes d'Afrique de l'Ouest et de l'installation du couloir sec dahoméen coïncident avec l'âge de l'expansion des lignées génétiques de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre.

**Conclusion :** Nous proposons que les populations de *B. aethiopum* ont évolué du Sahel vers le Sud en Afrique de l'Ouest et ont parallèlement évolué vers l'Afrique Centrale dans la même période et que cette expansion s'est réalisé en parallèle à celle des savanes favorisées par les périodes arides du climat identifier au Pléistocène (2,58 Ma – 11700 ans). Ces données renseignent sur l'étendue des savanes pendant les périodes arides du climat passé en Afrique de l'Ouest.

**Introduction**

Les savanes d'Afrique constituent une grande richesse en espèces végétales et représentent une réserve de ressource naturelle pour les populations locales (Fayolle et al. 2019). La grande majorité de ces savanes se trouve en Afrique de l'Ouest et couvrent une superficie de 3,7 millions de $km^2$ plus la zone de transition du Sahel qui occupe 2,8 millions de $km^2$ (White 1983; Linder 2014; Maurin et al. 2014; Boom et al. 2021). Plusieurs espèces végétales sont endémiques des savanes cependant, peu d'informations sont disponibles sur l'évolution de la distribution de ces espèces dans ces savanes (Fayolle et al. 2019). Cette lacune dans les connaissances représente un problème majeur au développement des stratégies de conservation et de protection efficace des espèces végétales de l'écosystème des savanes (Fayolle et al. 2019).

Les résultats des quelques travaux existants sur l'évolution de la distribution des espèces de savanes rapportent que les périodes d'aridification du climat passé ont joué un rôle prépondérant dans la distribution des espèces de savane (Allal et al. 2011; Logossa et al. 2011; Charles-Dominique et al. 2016; Lompo et al. 2018; Donkpegan et al. 2019; Davies et al. 2020; Boom et al. 2021). D'après Jacobs (2004) et Demenou et al. (2018), le couloir de savanes situé entre le bloc forestier Guinéo-congolais (allant de l'Est du Ghana au sud du Bénin et l'Ouest du Nigéria) et connu sous le nom du couloir dahoméen (ou Dahomey Gap) serait une relique des perturbations climatiques du Pléistocène (2,5 Ma – 11,7 ka) qu'on peut situer autour de 1,05 Ma. Ce couloir sec dahoméen aurait favorisé l'avancée des espèces de savane dans cette zone de rupture entre les deux blocs de forêt tropicale humide (Dupont et Weinelt 1996; Dupont et al. 2001; Tossou 2002; Salzmann et Hoelzmann 2005; Miller et Gosling 2014; Demenou, Piñeiro, et Hardy 2016; Piñeiro et al. 2021). D'après Demenou et al. (2018) ce couloir sec

dahoméen favorable à l'expansion des savanes dans cette zone est maintenu grâce à la baisse des précipitations et leur distribution irrégulière sur toute l'année ce qui fournirait des conditions climatiques favorables aux espèces de savane pour une expansion orientée du Nord vers le Sud dans cette zone. Par ailleurs, plusieurs études sur des enregistrements polliniques autour du Centre régional d'endémisme soudanien et la zone de transition du Sahel (White 1983; Droissart et al. 2018) ont révélé la présence de graminées en abondance dans les sédiments, il y a 3 Ma qui traduit une grande expansion des savanes en Afrique (Tossou, 2002; Jacobs, Pan, et Scotese 2010; Davies et al. 2020). D'après Couvreur et al. (2021), la période du Pliocène supérieur au Pléistocène inférieur (3 à 2 Ma) a été marquée par une augmentation soudaine et forte de l'aire de distribution des savanes en Afrique de l'Ouest. Ces auteurs notent également à travers la synthèse de plusieurs études biogéographiques que la savane subsaharienne a subi plusieurs phases d'expansion dans leur histoire (Dupont et al. 2000b; Bonnefille 2010; Couvreur et al. 2021).

En Afrique on dénombre environ 68 espèces de palmiers réparties en 18 genres qui sont toutes essentielles dans leur écosystème compte tenue des nombreux services écosystémiques (sur le plan agro-alimentaire, médicinal, économique et culturel) qu'ils offrent aux populations (Zona et Henderson 1989; Balslev 2011; Brokamp et al. 2011; Stauffer et al. 2017; Anne Blach-Overgaard et al. 2015; Dransfield et al. 2008). Bien que l'Afrique ne soit pas très riche en espèces de palmier, ces dernières restent indispensables aux populations et une grande partie des espèces de palmier du continent africain se retrouve dans les savanes comme par exemple *Hyphaene petersiana*, *Raphia vinifera*, *Raphia sudanica*, les palmiers du genre *Borassus*, etc (Blach-Overgaard et al. 2010b; Stauffer et al. 2017). Dans ce groupe de palmiers de savane, on retrouve également des palmiers qui sont des produits forestiers non-ligneux (PFNL) comme les palmiers africains du genre *Borassus* notamment *Borassus aethiopum* Mart (Bayton 2007).

*B. aethiopum* est l'une des espèces de palmiers les plus répandues dans les savanes d'Afrique de l'Ouest et aussi l'un des palmiers les plus utilisés par les populations locales en Afrique (Adomou et al. 2011; Ouinsavi, Gbémavo, et Sokpon 2011; Gruca et al. 2015; Gbesso et al. 2016; Salako et al. 2018; Ohin et al. 2018; Siebert et Struwig 2019). Le palmier rônier est une espèce dioïque, héliophile et caractéristique des savanes d'Afrique et sa dispersion est assurée par les gros mammifères (l'homme et les éléphants) (Bayton 2005; Salako et al. 2018). Elle est endémique des savanes d'Afrique et il n'est donc pas étrange de le rencontrer dans les savanes enclavées dans la forêt tropicale (Figure 1) (Dyer, 1952; Bayton 2005; Gbesso et al. 2014). Grâce à notre étude phylogénomique datée du genre *Borassus* réalisé dans le chapitre 2 de ce manuscrit nous avons montré que *B. madagascariensis* est l'espèce sœur de *B. aethiopum*. La divergence entre ces deux espèces du genre *Borassus* est intervenue d'après notre phylogénie du genre (cf. chapitre 2), il y a environ 3,05 Ma juste avant le début des perturbations climatiques du Pléistocène (2,58 Ma - 11700 ka). Ce qui suggère une distribution de cette espèce en Afrique au cours du Pléistocène. De plus, compte tenu de ces multiples usages (sur le plan socioculturel, alimentaire, médicinal et économique) une forte menace anthropique pèse sur les peuplements de *B. aethiopum* (Adomou et al. 2011; Ouinsavi, Gbémavo, et Sokpon 2011; Gruca et al. 2015; Gbesso et al. 2016; Salako et al. 2018; Ohin et al. 2018; Siebert et Struwig 2019). Cependant, aucune information n'est disponible sur les facteurs ayant influencés et façonnés l'état actuel de la distribution de ces populations dans les savanes. Quelle serait donc l'origine de cette espèce en Afrique de l'Ouest et comment ces peuplements se sont retrouvé au sein des savanes enclavées dans les zones de forêt ? L'une des hypothèses qui tente d'expliquer l'état actuel de la distribution des populations de *B. aethiopum* est que les populations de cette espèce ont évolué au cours des périodes arides du climat au Pléistocène (2,5 Ma – 11700 Ka avant le présent) et favorisé par l'expansion des savanes sur des zones de

forêt tropicale en Afrique de l'Ouest et du Centre (Blach-Overgaard, Svenning et Balslev 2009; Miller et Gosling 2014; Salzmann et Hoelzmann 2005; Bayton 2005; Dupont et al. 2001; Dupont et Weinelt 1996; Demenou, Piñeiro, et Hardy 2016).

Dans la littérature la seule étude qui aborde des aspects génétiques existant sur le palmier rônier est celle que nous présentons dans le chapitre 1 de ce manuscrit (Kpatènon et al. 2020). En absence totale des données génétiques sur cette espèce, nous avons développé des marqueurs moléculaires microsatellites spécifiques au *B. aethiopum* qui ont été utilisés pour caractériser sa diversité génétique dans 9 populations au Bénin. Les résultats de ces travaux ont révélé l'existence de deux groupes génétiques qui séparent les populations rencontrées au Nord des populations du Sud du Bénin. D'autres études existantes sur la distribution des espèces de savane utilisent généralement des méthodes de génétique des populations à grande échelle pour expliquer la distribution de ces espèces. Les résultats de ces travaux ont révélé que les changements climatiques passés ont dirigé la distribution des espèces végétales savanicoles (Allal et al. 2011; Logossa et al. 2011; Sexton et al. 2015; Lompo et al. 2018; Donkpegan et al. 2019). Cependant, les techniques de phylogénie moléculaire sont essentielles pour reconstruire et étudier l'histoire évolutive des espèces végétales savanicoles afin de comprendre les processus ayant conduit à leur distribution actuelle (Charles-Dominique et al. 2016; Davies et al. 2020).

Ici, nous présentons la première étude qui reconstruit l'histoire de la distribution des lignées génétiques de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre et déduisons l'impact des changements climatiques du Pléistocène (2,5 Ma - 11700 Ka avant le présent) sur la répartition des espèces de savanes. Nos objectifs sont : (i) de déterminer l'origine en Afrique de l'Ouest de l'espèce *Borassus aethiopum* ; (ii) reconstruire l'histoire de la distribution des groupes génétiques de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre ; (iii) en déduire le rôle joué par

les fluctuations climatiques du Pléistocène sur l'évolution des espèces de savanes d'Afrique de l'Ouest. Notre hypothèse au regard des travaux de Bayton (2007) est que l'évolution des lignées génétiques de *B. aethiopum* serait en lien avec les différentes périodes d'aridification du climat qui ont favorisé l'expansion des savanes de cette zone géographique. Pour atteindre ces objectifs et vérifier notre hypothèse, nous allons déterminer les lignées génétiques de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre puis utilisé une approche phylogénomique datée avec des gènes spécifiques au palmiers obtenue par capture de gène ciblé pour reconstruire l'histoire phylogéographique des populations de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre.

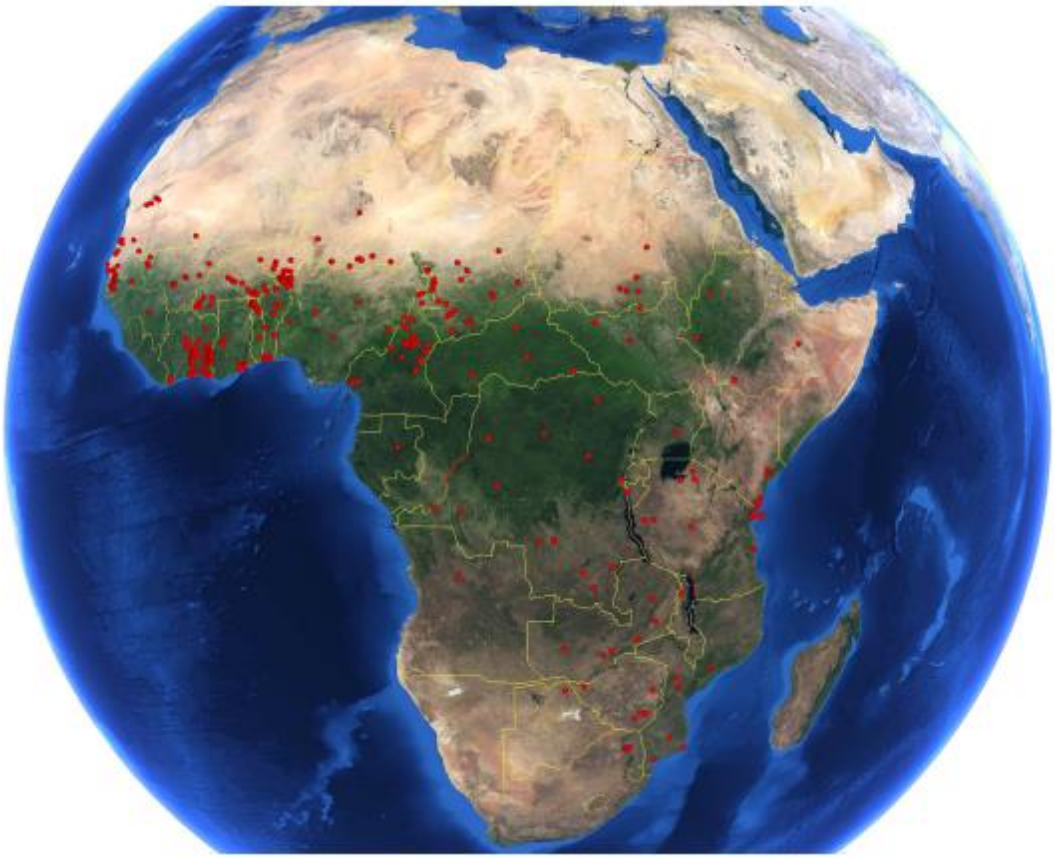

Figure 1 : Distribution actuelle de *B. aethiopum* en Afrique. Les points rouges représentent les points de présence des individus de *B. aethiopum* obtenue à partir de la base de données des plantes africaines.

Source : Gauthier, 2021.

## 1. Matériel et méthodes

### *1.1.Collecte des échantillons et extraction d'ADN*

Nous avons réalisé un échantillonnage intraspécifique constitué de prélèvement foliaire effectué sur 69 individus de *Borassus aethiopum* géo-référencé (Tableau 1). Les échantillons foliaires ont été collectés dans 19 populations à travers 5 pays à raison de 2 à 7 individus par population et conservés dans du gel de silice jusqu'à utilisation. Notre zone d'étude se localise en Afrique de l'Ouest et du Centre et rassemble 5 pays (Bénin, Burkina Faso, Cameroun, Côte d'Ivoire, Togo ; figure 2) présentant une diversité climatique importante (région humide, subhumide, semi-aride, aride et soudano-sahélien). Un individu de *B. madagascariensis* précédemment collecté et identifié comme espèce sœur de *B. aethiopum* a été utilisé comme groupe extérieur pour nos analyses phylogéographiques (Tableau 1).

Les ADNs totaux ont été isolés à partir de 250 mg de feuilles selon la méthode d'extraction décrite par Kpatènon et al. (2020).

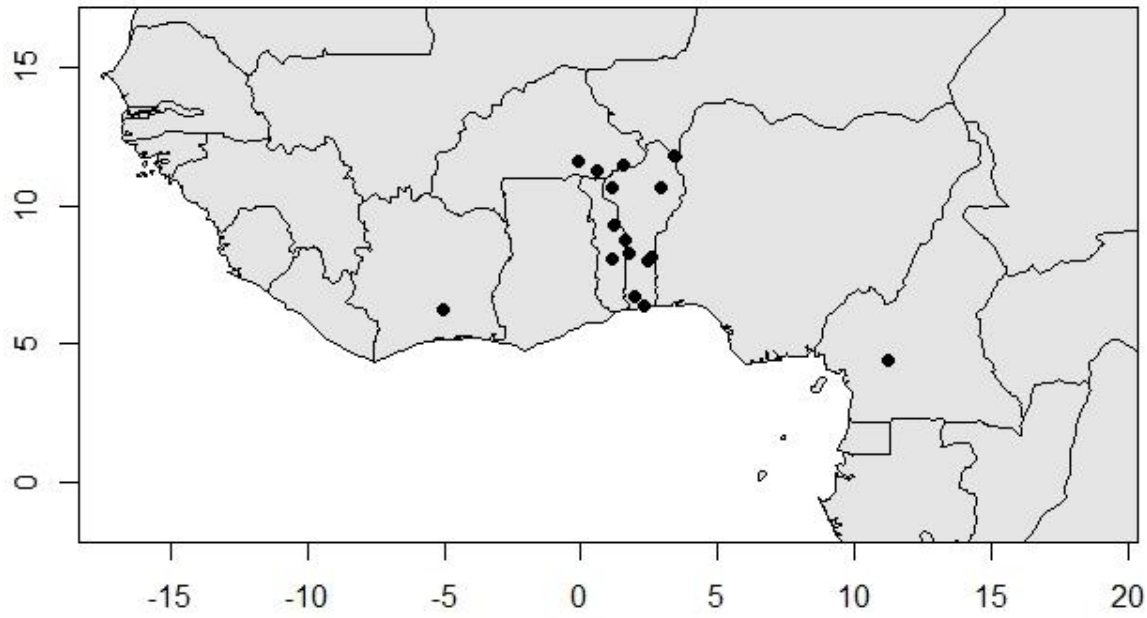


Figure 2 : Zone d'étude et site de collecte des échantillons de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre. Les points représentent la localisation géographique des arbres collectés (plusieurs points se superposent à cause de l'échelle de la carte.).

Tableau 1 : Liste des échantillons intra spécifique avec les coordonnées GPS. (B) : échantillons collectés au Bénin.

| N° d'ordre | ID | *Nom de l'espèce* | Localité | Latitude | Longitude |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | R66_T7 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3478889 | 2.313055556 |
| 2 | R66_T8 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3483333 | 2.3105 |
| 3 | R66_T9 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3505000 | 2.309055556 |
| 4 | R66_T10 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3494722 | 2.307527778 |
| 5 | R66_T11 | *Borassus aethiopum* | Hounviatouin (B) | 6.7374444 | 1.984527778 |
| 6 | R66_T12 | *Borassus aethiopum* | Hounviatouin (B) | 6.7309167 | 1.984388889 |
| 7 | R66_T13 | *Borassus aethiopum* | Hounviatouin (B) | 6.7300000 | 1.984944444 |
| 8 | R66_T14 | *Borassus aethiopum* | Hounviatouin (B) | 6.7287222 | 1.98525 |
| 9 | R66_T15 | *Borassus aethiopum* | Savè ( B ) | 8.0918889 | 2.536138889 |
| 10 | R66_T16 | *Borassus aethiopum* | Savè ( B ) | 8.0923611 | 2.537722222 |
| 11 | R66_T17 | *Borassus aethiopum* | Savè ( B ) | 8.1001389 | 2.54425 |
| 12 | R66_T18 | *Borassus aethiopum* | Savè ( B ) | 8.0273056 | 2.476638889 |
| 13 | R66_T19 | *Borassus aethiopum* | Savè ( B ) | 8.1366389 | 2.605194444 |
| 14 | R66_T20 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7470278 | 1.634666667 |
| 15 | R66_T21 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7477222 | 1.63475 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 16 | R66_T22 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7479167 | 1.63425 |
| 17 | R66_T23 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7514167 | 1.634388889 |
| 18 | R66_T24 | *Borassus aethiopum* | Pendjari ( B) | 11.4676389 | 1.566833333 |
| 19 | R66_T25 | *Borassus aethiopum* | Pendjari ( B) | 11.4671111 | 1.565555556 |
| 20 | R66_T26 | *Borassus aethiopum* | Pendjari ( B) | 11.4660000 | 1.565694444 |
| 21 | R66_T27 | *Borassus aethiopum* | Pendjari ( B) | 11.4663056 | 1.565527778 |
| 22 | R66_T28 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6946944 | 1.114777778 |
| 23 | R66_T29 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6958056 | 1.113222222 |
| 24 | R66_T30 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6956667 | 1.112305556 |
| 25 | R66_T31 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6956389 | 1.11225 |
| 26 | R66_T32 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 10.6960000 | 1.112083333 |
| 27 | R66_T33 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 11.8196667 | 3.398222222 |
| 28 | R66_T34 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 11.8194444 | 3.398777778 |
| 29 | R66_T35 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 11.8195000 | 3.397555556 |
| 30 | R66_T36 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.2967220 | 1.727306 |
| 31 | R66_T37 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.2963330 | 1.727778 |
| 32 | R66_T38 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.2951670 | 1.727833 |
| 33 | R66_T39 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.2950830 | 1.728000 |
| 34 | R66_T40 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.2953060 | 1.728167 |
| 35 | R66_T41 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivieres (B) | 10.6376390 | 2.927861 |
| 36 | R66_T42 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivieres (B) | 10.6426390 | 2.929306 |
| 37 | R66_T43 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivieres (B) | 10.6463890 | 2.929389 |
| 38 | R66_T44 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivieres (B) | 10.6399440 | 2.927167 |
| 39 | R66_T45 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivieres (B) | 10.6423330 | 2.926611 |
| 40 | R66_T47 | *Borassus aethiopum* | Togo | 8.099868 | 1.135458 |
| 41 | R66_T48 | *Borassus aethiopum* | Togo | 9.305644 | 1.236847 |
| 42 | R66_T49 | *Borassus aethiopum* | Togo | 9.305644 | 1.236847 |
| 43 | R66_T50 | *Borassus aethiopum* | Cameroun | 4.38297 | 11.25516 |
| 44 | R66_T51 | *Borassus aethiopum* | Cameroun | 4.38287 | 11.25516 |
| 45 | R66_T52 | *Borassus aethiopum* | Cameroun | 4.38287 | 11.25516 |
| 46 | R66_T53 | *Borassus aethiopum* | Cameroun | 4.38287 | 11.25516 |
| 47 | R66_T54 | *Borassus aethiopum* | Cameroun | 4.38287 | 11.25516 |
| 48 | R66_T55 | *Borassus aethiopum* | Cameroun | 4.38287 | 11.25516 |
| 49 | R66_T56 | *Borassus aethiopum* | Cameroun | 4.38287 | 11.25516 |
| 50 | R66_T76 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 51 | R66_T77 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 52 | R66_T78 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 53 | R66_T79 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 54 | R66_T80 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 55 | R66_T81 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 56 | R66_T82 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 57 | R66_T83 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 58 | R66_T84 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 59 | R66_T85 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 60 | R66_T86 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 61 | R66_T87 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 62 | R66_T88 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 63 | R66_T89 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 64 | R66_T90 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 65 | R66_T91 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 66 | R66_T92 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 67 | R66_T93 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.488267 | 1.564316 |
| 68 | R66_T94 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.488267 | 1.564316 |
| 69 | R66_T95 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.488267 | 1.564316 |

### *1.2. Capture de gènes, séquençage et pré-traitement des données*

Nous avons utilisé une approche de capture de gènes ciblés avec le kit d'appât spécifique au palmier de Heyduk et al. (2016) pour construire les librairies génomiques suivant le protocole Rohland et Reich (2012). Ce kit d'appât de Heyduk et *al*. (2016) cible 176 gènes présents chez différentes espèces de palmiers, et représentant 837 exons et un total de 211 939 paires de bases (MyBaits Target Enrichment Kit, Arbor Biosciences, Michigan, USA). L'ADN total de chaque individu a été cisaillé à une taille de 350 pb à l'aide du dispositif de sonication Bioruptor® Pico (Diagenode). L'ADN a été ensuite réparé, ligaturé et entaillé avant d'être amplifié suivant 10 cycles pour l'étape de pré-hybridation. Puis l'ADN a été nettoyé, quantifié et les échantillons ont été regroupés dans deux bibliothèques à laquelle nous avons ajouté les appâts marqués à la biotine afin d'hybrider les régions ciblées du lot de sonde utilisé (Heyduk et *al*. 2016). Ensuite des billes magnétiques enroulées de streptavidine pour immobiliser les sondes marquées à la biotine en présence d'un champ magnétique ont été utilisées. Le surnageant contenant l'ADN non lié a été jeté. Les fragments d'ADN enrichie capturés ont été élués des billes magnétiques. Après ajoute des adaptateurs, les fragments ont été amplifiés avec un PCR à temps réel (RT-PCR) pendant 15 cycles pour lier les adaptateurs et constituer les bibliothèques finales. A la suite de cet enrichissement, nous avions effectué un séquençage haut débit Illumina MiSeq (v3,

paired-end, longueur 150 pb) des banques ainsi obtenues comme décrit dans Helmstetter et al. (2020). Ces travaux ont été réalisé sur la plateforme du CIRAD de Montpellier, France.

Le prétraitement des données ainsi que l'ensemble des analyses bio-informatiques qui ont suivi ont été réalisés sur la plateforme SouthGreen (https://www.southgreen.fr/). Nous avions filtré et nettoyer les séquences brutes (raw reads) suivant le protocole bio-informatique décrit dans Couvreur et al. (2019). Le démultiplexage a été effectué avec un seuil 0-mistmatch en utilisant le script demultadapt ( https://github.com/Maillol/demultadapt ). Les adaptateurs ont été localisés et supprimés à l'aide du programme Cutadapt v1.2.1 (Martin 2011) en utilisant les paramètres par défaut. Les séquences ainsi nettoyées ont été filtrées et leurs qualités ont été contrôlée en utilisant le script suivant:
https://github.com/SouthGreenPlatform/arcad-hts/blob/master/scripts/arcad_hts_2_Filter_Fastq_On_Mean_Quality.pl avec les paramètres suivants : longueur >35 pb et qualité moyenne Q>30. Les séquences (reads) sens et antisens ont ensuite été appariées suivant leur noms dans le fichier fastq en utilisant un script de comparaison adapté de l'outil TOGGLE (Tranchant-Dubreuil et al. 2018). Les 6 derniers nucléotides des séquences anti-sens d'une longueur inférieure à 150 pb ont été supprimés à l'aide du script fastx trimmer qui fait partie du pack 'fastx' ( https://github.com/agordon/fastx_toolkit ).

### *1.3. Formatage des données pour l'inférence phylogéographiques*

Les séquences d'ADN, précédemment obtenues ont été, pré-traitées, puis analysées avec le pipeline HybPiper (v1.2) (Johnson et al. 2016) suivant la méthode décrite dans Couvreur et al. (2019), en maintenant les paramètres par défaut. En résumé, Le positionnement (mapping) des séquences sur les références (identifier par Heyduk et *al.* 2016) a été effectué à l'aide de BWA

(v0.7.12) (Li et Durbin 2009), puis l'assemblage des séquences correctement mappées en contig a été réalisé avec SPAdes (v3.11.1) (Bankevich et al. 2012). L'alignement des séquences (supercontigs) a été réalisé à l'aide de MAFFT (v7.305) (Katoh et Standley 2013) avec l'option « --auto » et le nettoyage de ces alignements a été réalisé avec GBLOCKS (v0.91b) (Castresana 2000) en maintenant les paramètres par défaut, et les positions d'espaces autorisées.

Nous avons utilisé le programme HybPiper pour identifier les potentiels loci paralogues. Pour s'assurer que les loci identifier sont de vrais paralogues, nous avons construit avec ces loci des arbres de gène à l'aide de RAxML (v8.2.9; Stamatakis 2014) en utilisant le modèle GTR + G. Ce modèle est couramment utilisé pour les analyses d'ADN car il est mieux adapté pour ces types d'analyses (Stamatakis 2016). Le support des nœuds des arbres a été calculé en utilisant l'option '-fa' pour réaliser 100 bootstrap. La cohérence des arbres a été examinée manuellement et l'intégralité du locus paralogues ont été supprimé de la suite des analyses comme décrit dans Helmstetter et al. (2020) et Couvreur et *al.* 2019).

Ensuite nous avons effectué un dernier filtre en sélectionnant que les exons ayant au moins 75 % de leur longueur reconstituée chez au moins 75 % des individus (critère 75/75) afin de minimiser les données manquantes et réduire le nombre d'arbres de gène erroné (Sayyari, Whitfield, et Mirarab 2017).

### *1.4. Appel de SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) et analyse de la structuration génétique des populations de B. aethiopum*

L'analyse de la structuration génétique au sein de cette collection intra spécifique a été réalisée selon deux approches complémentaires. Le pipeline SeCaPr (v1.1.4 ; Andermann et al. 2018) a été utilisé pour l'appel à SNPs car il génère un pseudo référence adapté à l'ensemble de données et composé de séquence consensus pour chaque locus cible avec les paralogues

automatiquement supprimés. Ce processus autonome est beaucoup plus efficace que l'utilisation des séquences référence du kit d'appât Heyduk et al. (2016) qui a été dessiné sur des espèces de palmier éloigné (Andermann et al. 2018).

Les pseudo références générées par SeCaPr ont été utilisées à l'aide de BWA (v0.7.12 ; Li et Durbin 2009) pour mapper nos reads appariées et nettoyées. Puis les doublons ont été supprimés et nous avons utilisé HaplotypeCaller dans GATK (v4.0 ; McKenna et al. 2010) pour effectuer l'appel à SNP. Les SNPs ont ensuite été filtrés à l'aide de BCftools (v1.9 ; Li 2011) en appliquant les paramètres suivants : mapping > 40 %, profondeur > 25 %, qualité par profondeur > 2, profondeur minimum par individus > 10. Les SNPs avec une fréquence allélique faible (< 0.01) ont été supprimés ainsi que les sites monomorphes, et seuls les SNPs bi-alléliques ont été conservés pour la suite des analyses.

L'analyse de la structuration génétique au sein de notre collection de *B. aethiopum* a été effectuée selon deux approches complémentaires. Dans un premier temps, une analyse discriminatoire des composantes principales (DAPC) (Jombart, Devillard, et Balloux 2010) a été réalisée en utilisant la fonction find.clusters implémenté dans le package R 'adegenet' (Jombart 2008) et en utilisant des valeurs de K (nombre de groupe génétique) moyennes successives avec 100 000 itérations pour chaque valeur de K et avec un seuil maximal de K = 20. Le nombre de K le plus approprié à notre jeu de données a été identifié grâce à l'analyse de la courbe d'évolution du critère d'information bayésien (BIC) en fonction des valeurs croissantes de K. Ensuite, une validation croisée de l'analyse DAPC a été effectuée avec la fonction optim.a.score pour vérifier si le nombre de composantes principales (PCs) choisies était correct. La diversité parmi les groupes génétiques a été identifiée à l'aide des fonctions dapc et nous avons utilisé l'appartenance au cluster déduite à l'aide de DAPC pour définir les populations pour les analyses de phylogéographie qui suivent.

Au cours d'une deuxième phase, le package R-LEA (Frichot et François 2015) dans R (v 4.0.1; R Core team, 2021), complémenté par les sources http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/Conversion.R et http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/POPSutilities.R, a été utilisé afin d'estimer les coefficients d'ascendance à partir de la matrice des génotypes et d'évaluer le nombre de populations ancestrales (snmf, pca) au moyen d'une méthode statistique. Il effectue également des tests statistiques en utilisant des modèles mixtes à facteurs latents pour identifier les polymorphismes génétiques qui présentent une association avec des gradients environnementaux ou des traits phénotypiques (lfmm et lfmm2). Cette approche a donc également été utilisée car R-LEA prend en compte les informations de localisation géographique pour la représentation spatiale des groupes génétiques identifiés dans la zone d'étude. La valeur du paramètre de différenciation génétique (Fst) a également été calculée avec R-LEA. La fonction objt.snmf a été utilisée avec des valeurs possibles de K allant de 1 à 10 avec 10 répétitions par valeur de K et une tolérance de 0.00001. La courbe d'entropie croisée a été analysée pour déterminer la meilleure valeur de K, puis la valeur de l'indice de structuration génétique (Fst) a été calculée pour la valeur de K choisie en utilisant la fonction fst.values sur l'objt.snmf. La matrice ancestrale (appartenance des individus par groupe génétique) obtenue pour cette valeur de K a ensuite été représentée.

### *1.5. Inférence phylogéographique des groupes génétiques de B. aethiopum*

La dynamique évolutive des lignées génétiques de *B. aethiopum* résultant de notre analyse de structuration a été analysé en construisant un arbre coalescent daté. A cette fin, les données issues de sept individus représentatifs de chaque groupe génétique résultant de notre analyse de structuration génétique précédente ont été utilisées, et l'espèce-sœur de *Borassus aethiopum* déterminer avec la phylogénie datée du genre *Borassus* (chapitre 2) a été utilisé comme groupe

externe (« outgroup »). L'arbre obtenu a été daté avec l'âge de spéciation précédemment obtenu entre *B. aethiopum* et l'espèce-sœur (*B. madagascariensis*) (cf chapitre 2). Chaque arbre de gène construit avec RAxML a été enraciné avec l'outil PHYX (Brown, Walker, et Smith 2017) en utilisant l'espèce sœur de *Borassus aethiopum* précédemment identifié puis nous avons calculé La variance de la racine à pointe (« root-to-tip variance ») avec SortaDate (https://github.com/FePhyFoFum/SortaDate/) de chaque arbre de gène enraciné. Les 32 loci présentant les valeurs de variance moléculaire les plus faibles, et donc répondant à une horloge moléculaire stricte et aussi pour des raisons de temps de calcul (Smith, Brown, et Walker 2018), ont été sélectionnés. Pour chacun de ces loci, le meilleur modèle de substitution de nucléotides a été recherché à l'aide de ModelTest (https://github.com/ddarriba/modeltest). Les 32 gènes alignés correspondants ont ensuite été convertis du format fasta au format nexus à l'aide de PGDSpider v2.1.1.5 (Lischer et Excoffier 2012) en prévision de la suite des analyses.

La construction de l'histoire évolutive des groupes génétiques de *B. aethiopum* reposant sur la méthode de coalescence a été effectuée à l'aide de l'inférence bayésienne dans BEAST v2.5.2 (Bouckaert et al. 2019). Nous avons utilisé le modèle 'StarBeastWithSTACEYops' et assigné chaque individu à sa lignée respective. Ce modèle permet la construction d'un arbre d'espèces à partir de plusieurs gènes. Pour chaque individu, le meilleur modèle d'évolution de substitution de nucléotides a été déterminé avec ModelTest puis il a été calibré avec une horloge moléculaire stricte de 0,001 avec la case estimation (« estimate ») cochée. L'arbre a été généré avec un *a priori* de ''population constante coalescente'' car cette à priori est parfaitement adapté à la description des relations phylogénétiques intra spécifique d'après Ritchie et al. (2017). Nous avons placé un point de calibration secondaire au nœud qui sépare *B. aethiopum* et son espèce-sœur en utilisant l'âge de spéciation précédemment déterminé avec un *a priori* uniforme. En réalité nous avons contraint l'âge du nœud entre *B. aethiopum* et son-espèce sœur *B.*

*madagascariensis* en utilisant comme borne inférieur et supérieur de l'âge les valeurs de 95 % de hauteur de densité postérieure les plus élevées (95 % HPD) déterminées avec la phylogénie du genre *Borassus*. Nous avons spécifié la monophylie de ce genre comme identifiée par Bayton. (2005) et Bellot et al. (2020). Trois analyses indépendantes de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) ont été effectuées, avec une longueur de chaîne de 100 millions et un échantillonnage toutes les 10 000 générations, la vérification de la taille d'échantillon effective (ESS) supérieure à 200 pour l'ensemble des paramètres étant réalisée à l'aide de Tracer v1.7 (Rambaut et al. 2018). Les résultats des trois analyses ont ensuite été combinés à l'aide de LogCombiner v2.5.2 (Bouckaert et al. 2019) et avec un burn-in de 10 %, puis un arbre de crédibilité maximale du clade a été généré (MCC) à l'aide de TreeAnnotator v2.5.2 (Bouckaert et *al*., 2019) et pour calculer les valeurs de 95 % HPD. L'arbre résultant a été visualité et annoté avec FigTree (v1 .4.3 ; Rambeaut, 2016).

## 2. Résultats

### *2.1. Appel de SNP et structuration génétique des populations de B. aethiopum au sein de la zone d'étude*

L'analyse de la structuration génétique chez *B. aethiopum* réalisée avec DAPC a permis d'identifier un total de 1085 SNP à partir de 140 loci différents, sans données manquantes. Dans l'analyse dapc, nous avons retenu 68 composantes principales (PCs) après la validation croisée, car cette valeur s'est avérée appropriée pour déterminer la structuration génétique de notre collection de *B. aethiopum*. Après analyse de la courbe BIC nous avons déterminé trois groupes génétiques chez *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre sur la base des valeurs de la courbe du critère bayésien d'information (BIC) et l'analyse des composantes principales (Figure 3A).

Les mêmes nombres de groupes génétiques ont été identifiés par R-LEA chez *B. aethiopum*. La répartition des individus au sein de ces trois groupes génétiques déterminés avec DAPC permet de séparer 43 individus faisant partie du cluster 1, 19 individus appartenant au cluster 2 et 7 individus appartenant au cluster 3 (Figure 3C pour R-LEA et annexe : figure 1 pour DAPC). Les individus regroupés dans le cluster 1 sont composés principalement d'arbres collectés dans les régions du Burkina Faso, de la Côte d'Ivoire, du Nord Bénin et de la région de Savè au Centre du Bénin. Le cluster 2 est composé des individus provenant du Sud et du Centre du Bénin ainsi que du Sud du Togo. Le cluster 3 quant à lui regroupe exclusivement les individus collectés dans les populations d'Afrique Centrale (Cameroun). Nous avons obtenu une faible valeur pour l'indice de différenciation génétique (Fst < 0,04; Figure 3B), suggérant une faible structuration génétique chez *B. aethiopum* dans notre zoné d'étude. Nos résultats révèlent également une forte admixture qui témoigne d'un important flux de gène dans la structuration génétique de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre.

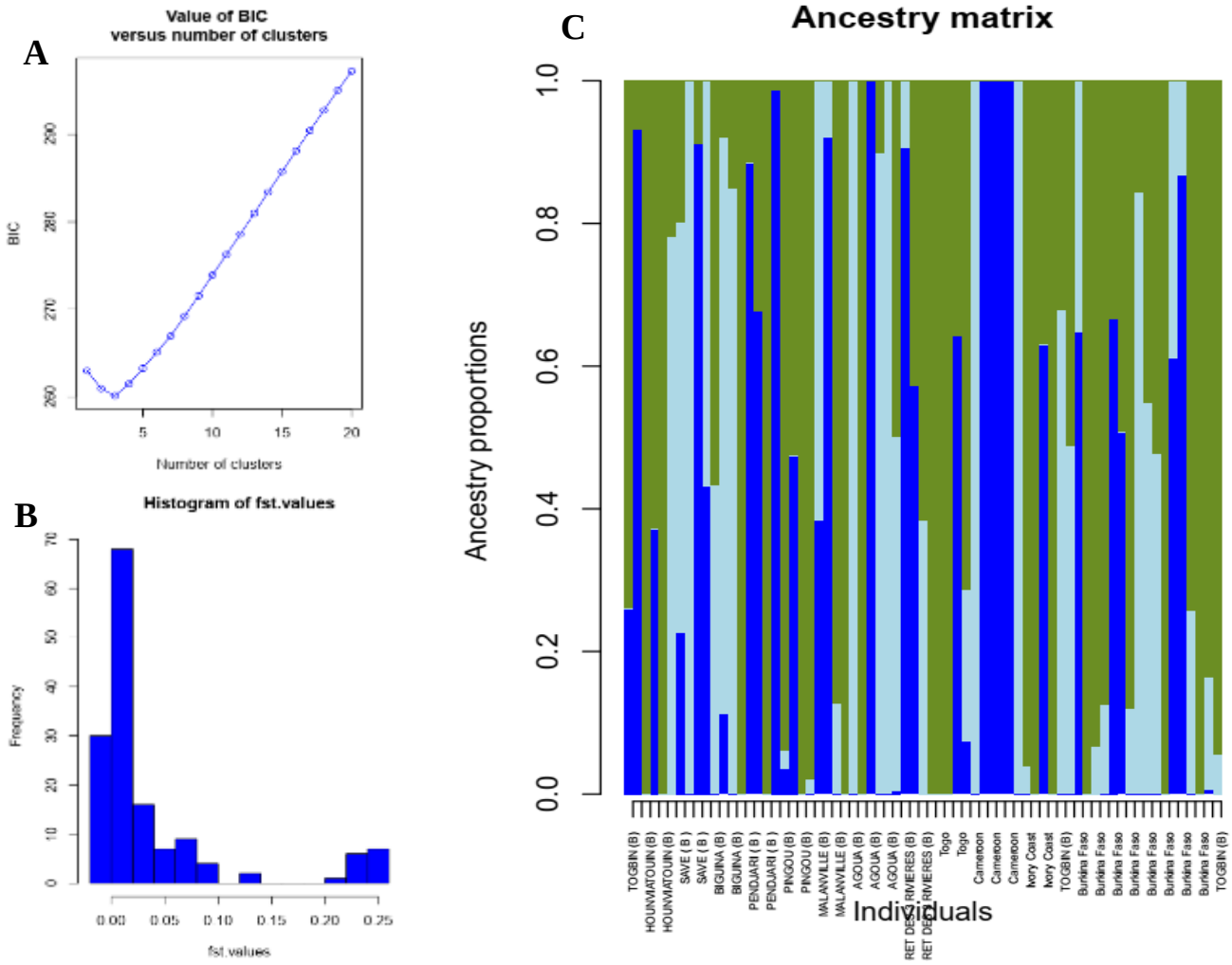


Figure 3 : Structuration génétique réalisée avec DAPC et R-LEA sur notre échantillonnage de *B. aethiopum* (69 individus de *B. aethiopum*). A : Courbe du critère bayésien d'information (BIC) à partir duquel nous avons choisi le nombre de cluster K obtenir avec DAPC ; B : diagrammes des valeurs de l'indice de différenciation génétique obtenu avec R-LEA ; C : diagramme de l'attribution des individus par cluster génétique pour K= 3, ici chaque couleur identifie un groupe génétique (R-LEA).

### *2.2. Histoire évolutive des groupes génétiques de B. aethiopum en Afrique de l'Ouest et du Centre*

A partir des extraits d'ADN foliaires obtenus de la collection de *B. aethiopum*, le séquençage haut-débit des gènes capturés a généré un total de 29,1 millions de séquences brutes (raw reads),

pour les 69 individus (Cf annexe, tableau 3). HybPiper a détecté 117 supercontings après avoir appliqué notre critère 75/75 et supprimer 8 loci paralogues.

Comme le montre la Figure 4, l'analyse phylogéographique de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre révèlent que la diversification des groupes génétiques de cette espèce s'est déroulée au cours du Pléistocène (2,58 Ma - 11 700 ans). Les différentes branches de notre arbre phylogéographique présentent des valeurs de probabilité postérieure qui supportent les nœuds égale à 1. Au sein de notre collection de *B. aethiopum* collecté en Afrique de l'Ouest et du Centre, les résultats de l'inférence phylogéographique révèlent une diversification orientée Nord-Sud pour les lignées génétiques de *B. aethiopum* (Figure 4). La divergence des groupes génétiques de *B. aethiopum* a commencé il y a 1,38 Ma (95 % HDP : 1,17 - 1,62 Ma ; pp = 1) et s'est déroulé au cours du Pléistocène. Nos résultats montrent que les groupes génétiques 2 (individus provenant des populations du Sud et du Centre du Bénin ainsi que du Sud du Togo) et 3 (individus provenant du Cameroun) ont divergé à la même période il y a 0,92 Ma (95 % : 0,03 - 1,29 Ma ; pp = 0,86). Nos résultats suggèrent donc que les populations de *B. aethiopum* du Burkina Faso, de la Côte d'Ivoire, du Nord Bénin, Centre Togo et Centre Bénin (Savè) se sont installés bien avant les populations du Sud Bénin, du Centre Bénin, du Sud Togo et du Cameroun. Ceci traduit la présence d'un potentiel gradient Nord - Sud pour l'expansion des populations de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest puis une orientation du Nord-Ouest vers l'Afrique Centrale.

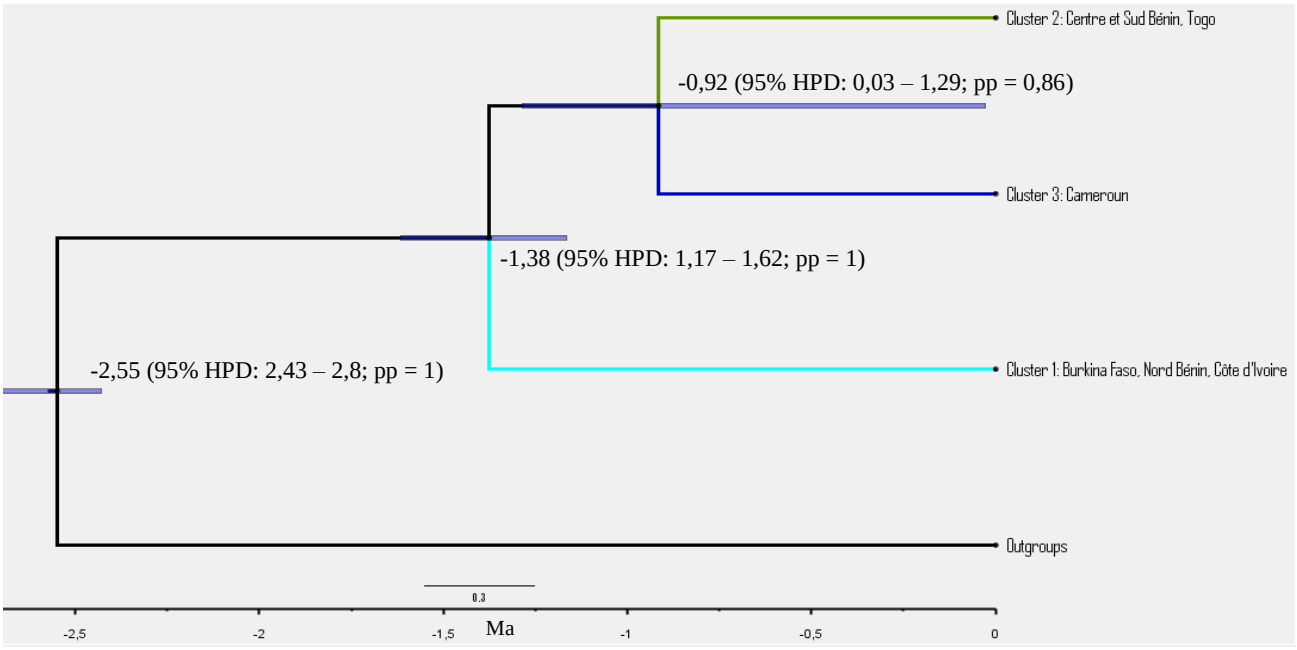


Figure 4 : Arbre coalescent daté obtenu par inférence bayésienne à l'aide BEAST avec un a priori population constante coalescente et un modèle *StarBeastWithSTACEYops*. L'arbre daté estime les temps de divergence des trois lignées génétiques intra spécifique identifiées chez *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre. Le cluster 1 regroupe les individus du Burkina Faso, de la Côte d'Ivoire, du Nord Bénin, du centre Togo et une population du centre Bénin (Savê). Le cluster 2 représente les individus collectés au Sud Bénin, au Sud Togo et Centre Bénin. Le cluster 3 rassemble exclusivement tous les individus provenant du Cameroun. Nous avons utilisé 7 individus de chaque lignée génétique et un individu de l'espèce sœur *B. madagascariensis* comme groupe extérieur (outgroups). Les valeurs de 95 % HDP du nœud couronne de la spéciation entre *B. aethiopum* et son espèce-sœur comme identifier dans la phylogénie du genre ont été utilisé pour calibrer ce nœud et contraindre l'arbre a une distribution uniforme pour les lignées génétiques de *B. aethiopum*. Les barres bleues au niveau des couronnes représentent les valeurs de 95 % HDP identifiées pour chaque nœud. Les trois différentes colorations des branches identifient les trois groupes génétiques obtenues avec la structuration génétique.

## 3. Discussion

### *3.1. Phylogéographies des lignées génétiques de B. aethiopum en Afrique de l'Ouest et du Centre*

L'analyse de la structuration génétique de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre a révélé l'existence de 3 lignées génétiques distinctes (Figure 3A et C). La forte admixture que révèle nos résultats (Figure 3C) entre les individus de ces 3 lignées génétiques traduit un important flux génétique entre ces groupes génétiques. Cependant, la lignée génétique 1 qui rassemble les individus collectés au Burkina-Faso, au Nord Bénin, en Côte d'Ivoire, à Savè (population du centre Bénin) et Centre Togo est séparé actuellement de la lignée génétique 3 (Cameroun) par le bloc de forêt tropicale humide congolaise et cette observation est pareil entre les lignées génétiques 2 (Sud Togo, Sud Bénin et Centre Bénin) et 3 (Cameroun). Ce qui suggère que la forte admixture observée serait dû à une connexion historique entre ces 3 clusters. Ces résultats sont soutenus par le faible indice de différenciation génétique obtenue (Figure 3B) pour les populations de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre. De pareilles observations avaient également été faites chez d'autres espèces de savane en Afrique de l'Ouest (Lompo et al. 2018; Lyam et al. 2018; Donkpegan et al. 2019).

*Borassus aethiopum* est l'un des palmiers ayant le plus gros fruit et nous savons que la dispersion de ces graines est assurée par les gros mammifères comme l'homme et l'éléphant (Zona et Henderson 1989; Bayton 2005; Siebert et Struwig 2019). En ce qui concerne les éléphants leur distance de dispersion est au maximum de 65 km (Siebert et Struwig 2019) et de nos jours la disperssion des graines de cette espèce est attribuée au gros mamifère comme l'éléphant. Cependant, si nous pouvons associer la migration des gros mamifères à la disperssion des graines de *Borassu aethiopum* au sein du couloir sec dahomeen entre les lignée génétique 1 et 2, nous ne pouvons pas dire autant sur la disperssion des graines de *Borassus aethiopum* vers l'Afrique centrale (cluster 3 : Cameroun). Car ces deux régions sont géographiquement très éloin et séparé de nos jours par la forêt tropicale humide. Ainsi donc cette migration vers l'Afrique Centrale n'a pu-etre possible grace au condition climatique aride

favorable à l'expanssion des espèces de savanes. Par ailleurs, l'appartenance des individus du Nord Bénin, du Burkina-Faso et de la Côte d'Ivoire et Savè (Centre Bénin) au même groupe peut être expliqué par une dispersion par les gros mamifère comme l'éléphant, car cette zone regroupe plusieurs parcs nationaux et aires protégées qui abritent de nombreux troupeaux d'éléphants qui migrent entre ces aires protégées (Salako et al. 2018). L'appartenance de la population de Savê (Centre Bénin) au groupe génétique 1 confirme nos résultats de structuration génétique réalisé avec les marqueurs microsatellites (Kpatènon et al. 2020). Ces observations pourraient s'expliquer par le fait que jusqu'en 1982, les mêmes troupeaux d'éléphants rencontrés dans les parcs au Nord du Bénin se retrouvent de façon saisonnier dans les forêts de Wari-Maro et du Monts Kouffè dont les superficies atteints les frontières de Savê (Roth et Douglas-Hamilton, 1991).

A partir de notre arbre phylogéographique daté nous pouvons reconstruire l'histoire des lignées génétiques de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre. L'analyse de la figure 4 révèle une origine au Sahel pour *B. aethiopum* et une distribution longitudinale orientée du Nord vers le Sud en Afrique de l'Ouest et au Centre situé respectivement autour de 1,38 Ma et 0,92 Ma. Bien avant cela, entre l'âge de divergence de *B. aethiopum* et son espèce sœur (2,55 Ma ; figure 4) et le début de l'expansion de *B. aethiopum* vers le Sud (cluster 2 : Bénin, Togo) et le Centre (Cameroun) plusieurs années se sont écoulé. Cette période de formation des lignées génétiques 2 et 3 d'après plusieurs auteurs est marquée par d'importantes fluctuations climatiques caractérisées par une alternance de période glaciaire et interglaciaire et on note également sur les enregistrements polliniques d'Afrique de l'Ouest et de l'Est (2,7 Ma) un taux important de couverture arborée (Trauth, Larrasoaña, et Mudelsee 2009; Bonnefille 2010; Couvreur et al. 2021). L'expansion des lignées génétiques de *B. aethiopum* vers le Sud de l'Afrique de l'Ouest

(cluster 2 : Sud et Centre Bénin et Sud Togo) et le Centre (Cluster 3 : Cameroun) situé autour de 1,38 Ma (95 % HDP : 1,17 – 1,62 Ma ; pp = 1) correspond à l'une des périodes interglaciaires chaudes identifiées par Edwards et al. (2010; 2016) et caractérisé par l'expansion des savanes sur le continent africain. D'après Blach-Overgaard (2009 ; 2010), les espèces de palmier notamment ceux de savanes sont sensible à la variation du climat (température, pluviométrie annuelle, répartition de la précipitation sur l'année) dans la distribution de leur population (Blach-Overgaard 2009 et 2010). Ceci confirme le fait que les périodes d'expansion des lignées génétiques de *B. aethiopum* correspond bien aux périodes arides du Pléistocène (2,58 Ma – 11,7 Ka avant le présent).

La migration des populations de *B. aethiopum* vers l'Afrique Centrale (Cluster 3 : Cameroun) (Figure 4) s'est déroulé en parallèle à celle vers le Sud de l'Afrique de l'Ouest (Bénin, Togo) dans la même période (0,92 Ma, 95 % HDP : 0,03 - 1,29 Ma ; pp = 0,86). Ceci traduit que cette expansion aurait suivi potentiellement la grande période d'expansion des savanes sur le continent identifiée par Edward et al (2016) et bien d'autres auteurs (Salzmann et Hoelzmann 2005; Salzmann, Hoelzmann, et Morczinek 2002b; Russell, Talbot, et Haskell 2003b; Couvreur et al. 2021). Il faut noter cependant, que la lignée génétique 3 (Cameroun) se retrouve dans une savane enclavée dans la forêt tropicale humide. Nous proposons donc que l'introduction de cette population de *B. aethiopum* au Cameroun qui remonte à 0,92 Ma a été favorisé par une expansion des savanes du Sahel sur cette zone tropicale. Ces observations s'accordent avec les résultats de Piñeiro et al. (2017) qui révèlent une fragmentation de la forêt tropicale dans l'Ouest de l'Afrique Centrale située à moins de 2 Ma au cours des périodes froides et sèches du Pléistocène qui auraient favorisé l'expansion des espèces de savane dans cette zone. Cette expansion est beaucoup plus remarquable chez les espèces dont la dispersion est assurée par les animaux ( Maley 1987; Piñeiro et al. 2017).

On peut localiser les populations de la lignée génétique 2 (Sud et Centre Bénin, Sud et centre Togo) au sein du couloir sec dahoméen. Et nous savons que ce couloir sec s'est installé progressivement et sépare actuellement les deux blocs de forêt tropicale humide (guinéo-congolais) (Dupont et Agwu 1992; Dupont et Weinelt 1996; Dupont et al. 2001; Miller et Gosling 2014). Plusieurs études ont démontré que la présence d'une végétation de type savane dans le couloir sec dahoméen a été favorisé par l'aridification du climat connu au Pléistocène et ce phénomène peut être situé autour de 1,05 Ma (Dupont et Weinelt, 1996; Salzmann et Hoelzmann 2005; Tossou 2002; Miller et Gosling 2014; Demenou, Piñeiro, et Hardy 2016; Demenou, Doucet, et Hardy 2018; Demenou et al. 2020 ; Piñeiro et al. 2021). Bien que l'âge d'installation du couloir sec dahoméen soit controversé, il est accepté que cette trouée de savane qui sépare les deux blocs de forêt s'est installée progressivement (Guillaumet, 1967 ; Couvreur et al. 2021). Ceci suggère un potentiel gradient de migration orientée Nord – Sud pour les populations de *B. aethiopum* retrouvées dans cette zone. Malheureusement notre échantillonnage ne couvrant pas toutes la zone de distribution de *B. aethiopum* ceci ne permet donc pas d'aller plus loin dans les analyses ni de reconstruire l'histoire évolutive complète de *B. aethiopum* en Afrique. Cependant, nos résultats confirment l'hypothèse selon laquelle les populations de *B. aethiopum* se sont dispersées au cours du Pléistocène et cette répartition a été orientée par l'expansion des savanes sous l'influence des changements climatiques du Pléistocène (2,58 - 11,7 ka avant le présent).

**Conclusion**

Nous présentons ici l'histoire phylogéographie datée de *Borassus aethiopum* utilisant des données moléculaires et des données fossiles en Afrique de l'Ouest et du Centre. L'analyse des résultats nous a permis d'identifier trois groupes génétiques chez *B.* aethiopum en Afrique de

l'Ouest et du Centre. Les populations de *B. aethiopum* installées dans les régions soudano-guinéenne et guinéo-congolienne apparait plus récente que ceux de la zone soudanienne. L'installation de ces deux lignées génétiques identifié dans ces régions climatiques a démarré, il y a 1,38 Ma et c'est déroulé aucours du Pléistocène (2,58 Ma – 11 700 ans avant le présent). Le schémas phylogéographique trouvé pour les groupes génétiques de *B. aethiopum* semble refléter l'impact des changements climatiques passés sur l'évolution des savanes de cette zone. Cependant un échantillonnage plus large couvrant toute l'aire de distribution de cette espèce reste indispensable pour mieux élucider le schéma évolutif de ces populations pour l'élaboration des stratégies de conservation durable.

## Références bibliographiques

Ade, Ajisafe. 2016. « ScienceDirect Palynology: A useful tool in understanding palaeoclimatic changes through the Pliocene-Pleistocene from the deep offshore Niger Delta, Nigeria ». https://www.academia.edu/27616093/ScienceDirect_Palynology_A_useful_tool_in_understanding_palaeoclimatic_changes_through_the_Pliocene_Pleistocene_from_the_deep_offshore_Niger_Delta_Nigeria.

Adomou, Aristide C., Akpovi Akoègninou, Brice Sinsin, Bruno de Foucault, et Laurentius J.G. van der Maesen. 2009. « Semi-Deciduous Forest Remnants in Benin: Patterns and Floristic Characterisation ». *Acta Botanica Gallica* 156 (2): 159-71. https://doi.org/10.1080/12538078.2009.10516148.

Ahossou, Oscar D., Kasso Daïnou, Steven B. Janssens, Ludwig Triest, et Olivier J. Hardy. 2020. « Species Delimitation and Phylogeography of African Tree Populations of the Genus Parkia (Fabaceae) ». *Tree Genetics & Genomes* 16 (5): 68. https://doi.org/10.1007/s11295-020-01463-x.

Alexandros Stamatakis. 2016. *The RAxML v8.2.X Manual*.

Allal, F, H Sanou, L Millet, A Vaillant, L Camus-Kulandaivelu, Z A Logossa, F Lefèvre, et J-M Bouvet. 2011. « Past Climate Changes Explain the Phylogeography of Vitellaria Paradoxa over Africa ». *Heredity* 107 (2): 174-86. https://doi.org/10.1038/hdy.2011.5.

Alsos, Inger Greve, Sebastien Lavergne, Marie Kristine Føreid Merkel, Marti Boleda, Youri Lammers, Adriana Alberti, Charles Pouchon, et al. 2020. « The Treasure Vault Can be Opened: Large-Scale Genome Skimming Works Well Using Herbarium and Silica Gel Dried Material ». *Plants* 9 (4): 432. https://doi.org/10.3390/plants9040432.

Ambe, G.A. 2001. « Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire: état de la connaissance par une population locale, les Malinké ». *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 5 (janvier).

Andermann, Tobias, Ángela Cano, Alexander Zizka, Christine Bacon, et Alexandre Antonelli. 2018. « SECAPR—a Bioinformatics Pipeline for the Rapid and User-Friendly Processing of Targeted Enriched Illumina Sequences, from Raw Reads to Alignments ». *PeerJ* 6 (juillet): e5175. https://doi.org/10.7717/peerj.5175.

Artigas, Rafael Cámara. 2009. « Concepts, approche bioclimatique et typologie des savanes.Application aux savanes américaines ». *Cahiers d'Outre-Mer* 62 (62): 175-218. https://doi.org/10.4000/com.5567.

Assi Kaudjhis, Chimène Cloche M., Bruno Zéli Digbehi, Emile Roche, et Anne-Marie Lezine. 2010. « Synthèse sur l'évolution des paléoenvironnements de l'Afrique occidentale atlantique depuis la fin de la dernière période glaciaire. Influences climatiques et anthropiques. » *Revue Internationale de Géologie, de Géographie et d'Ecologie Tropicales* 34 (décembre). https://orbi.uliege.be/handle/2268/91037.

Atyi, Richard Eba'a, Guillaume Lescuyer, Jonas Ngouhouo Poufoun, et Thérèse Moulendè Fouda. 2013. « Étude de l'importance économique et sociale du secteur forestier et faunique au Cameroun », 315.

Ballardini, Marco, Antonio Mercuri, Emira Cherif, Sylvain Santoni, Claudio Littardi, Karina Castillo, Frédérique Aberlenc-Bertossi, et Jean-Christophe Pintaud. 2012. « Mise au point de marqueurs moléculaires pour l'étude de la variabilité génétique de Chamaerops humilis L.: résultats preliminaries ». *Le Palmier* Hors-Série n°1: Chamaerops humilis (janvier): 48.

Balslev, Henrik. 2011. « Palm Harvest Impacts in North-Western South America ». *The Botanical Review* 77 (4): 370-80. https://doi.org/10.1007/s12229-011-9083-y.

Bankevich, Anton, Sergey Nurk, Dmitry Antipov, Alexey A. Gurevich, Mikhail Dvorkin, Alexander S. Kulikov, Valery M. Lesin, et al. 2012. « SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its

Applications to Single-Cell Sequencing ». *Journal of Computational Biology: A Journal of Computational Molecular Cell Biology* 19 (5): 455-77. https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021.

Bayton, Ross. 2007. « A Revision of Borassus L. (Arecaceae) ». *Kew Bulletin* 62 (janvier): 561-85.

Bayton, Ross P., et Amadé Ouédraogo. 2009. « Discovering Africa's Newest Palm. » *Palms* 53 (1): 37-45.

Bayton, Ross P., Amadé Ouédraogo, et Sita Guinko. 2006. « The genus Borassus (Arecaceae) in West Africa, with a description of a new species from Burkina Faso ». *Botanical Journal of the Linnean Society* 150 (4): 419-27. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2006.00485.x.

Bayton, Ross Patrick. 2005. « BORASSUS L. & THE BORASSOID PALMS: SYSTEMATICS & EVOLUTION », 244.

Bellefontaine, R., A. Gaston, et Y. 1997. « Aménagement des forêts naturelles des zones tropicales sèches ». 1997. https://www.fao.org/3/w4442f/w4442f00.htm#Contents.

Berry, E. W. 1914. « The Upper Cretaceous and Eocene floras of South Carolina and Georgia ». *Professional Paper*. https://doi.org/10.3133/pp84.

Blach-Overgaard, A., J.-C. Svenning, et H. Balslev. 2009. « Climate Change Sensitivity of the African Ivory Nut Palm,Hyphaene PetersianaKlotzsch Ex Mart. (Arecaceae) – a Keystone Species in SE Africa ». *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 8 (novembre): 012014. https://doi.org/10.1088/1755-1315/8/1/012014.

Blach-Overgaard, Anne, Henrik Balslev, John Dransfield, Signe Normand, et Jens-Christian Svenning. 2015. « Global-Change Vulnerability of a Key Plant Resource, the African Palms ». *Scientific Reports* 5 (1): 12611. https://doi.org/10.1038/srep12611.

Blach-Overgaard, Anne, Jens-Christian Svenning, John Dransfield, Michelle Greve, et Henrik Balslev. 2010a. « Determinants of Palm Species Distributions across Africa: The Relative Roles of Climate, Non-Climatic Environmental Factors, and Spatial Constraints ». *Ecography* 33 (2): 380-91. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2010.06273.x.

———. 2010b. « Determinants of Palm Species Distributions across Africa: The Relative Roles of Climate, Non-Climatic Environmental Factors, and Spatial Constraints ». *Ecography* 33 (2): 380-91. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2010.06273.x.

Blanc-Pamard, Chantal, et Pierre Peltre. 1987. « Remarques à propos de "Écologie et histoire: les origines de la savane du Bénin" ». *Cahiers d'Études Africaines* 27 (107/108): 419-23.

Bonnefille, Raymonde. 2010. « Cenozoic Vegetation, Climate Changes and Hominid Evolution in Tropical Africa ». *Global and Planetary Change*, Quaternary and Global Change: Review and Issues Special issue in memory of Hugues FAURE, 72 (4): 390-411. https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2010.01.015.

Boom, Arthur F., Jérémy Migliore, Esra Kaymak, Pierre Meerts, et Olivier J. Hardy. 2021. « Plastid Introgression and Evolution of African Miombo Woodlands: New Insights from the Plastome-based Phylogeny of *Brachystegia* Trees ». *Journal of Biogeography* 48 (4): 933-46. https://doi.org/10.1111/jbi.14051.

Bouckaert, Remco, Timothy G. Vaughan, Joëlle Barido-Sottani, Sebastián Duchêne, Mathieu Fourment, Alexandra Gavryushkina, Joseph Heled, et al. 2019. « BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis ». *PLOS Computational Biology* 15 (4): e1006650. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006650.

Brée, Baptiste, Andrew J. Helmstetter, Kévin Bethune, Jean-Paul Ghogue, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2020. « Diversification of African Rainforest Restricted Clades: Piptostigmateae and Annickieae (Annonaceae) ». *Diversity* 12 (6): 227. https://doi.org/10.3390/d12060227.

Brokamp, Grischa, Natalia Valderrama, Moritz Mittelbach, César A. Grandez R., Anders S. Barfod, et Maximilian Weigend. 2011. « Trade in Palm Products in North-Western South America ». *The Botanical Review* 77 (4): 571-606. https://doi.org/10.1007/s12229-011-9087-7.

Brown, Joseph W, Joseph F Walker, et Stephen A Smith. 2017. « Phyx: phylogenetic tools for unix ». *Bioinformatics* 33 (12): 1886-88. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx063.

C.A. Adomou, O.P. Agbani, B. Sinsin, P.S. Neuenschwander, et G. Goergen (Eds.). 2011. « Protection de la nature en Afrique de l'Ouest: Une liste rouge pour le Bénin. Nature Conservationin West Africa: Red List for Benin, International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria », 365.

Castresana, J. 2000. « Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis ». *Molecular Biology and Evolution* 17 (4): 540-52. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334.

Charles-Dominique, Tristan, T. Jonathan Davies, Gareth P. Hempson, Bezeng S. Bezeng, Barnabas H. Daru, Ronny M. Kabongo, Olivier Maurin, A. Muthama Muasya, Michelle van der Bank, et William J. Bond. 2016. « Spiny Plants, Mammal Browsers, and the Origin of African Savannas ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (38): E5572-79. https://doi.org/10.1073/pnas.1607493113.

Chevalier, Auguste. 1949. « Répartition géographique et Exploitation des Palmiers Borassus ». *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale* 29 (325): 585-92. https://doi.org/10.3406/jatba.1949.6277.

Cisse, Abdoulaye, Mevanly Ouattara, Estelle Anny N'guessan, et Joël Emmanuel N'Gouan Abrou. 2020. « Diversité végétale et usages des plantes dans une zone de savane soudanienne : Cas de la localité de Ferkessédougou (Nord, Côte d'Ivoire) ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 14 (8): 2807-25. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v14i8.13.

Couvreur, Thomas L. P., Andrew J. Helmstetter, Erik J. M. Koenen, Kevin Bethune, Rita D. Brandão, Stefan A. Little, Hervé Sauquet, et Roy H. J. Erkens. 2019. « Phylogenomics of the Major Tropical Plant Family Annonaceae Using Targeted Enrichment of Nuclear Genes ». *Frontiers in Plant Science* 9: 1941. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01941.

Couvreur, Thomas L.P., Gilles Dauby, Anne Blach-Overgaard, Vincent Deblauwe, Steven Dessein, Vincent Droissart, Oliver J. Hardy, et al. 2021. « Tectonics, Climate and the Diversification of the Tropical African Terrestrial Flora and Fauna ». *Biological Reviews* 96 (1): 16-51. https://doi.org/10.1111/brv.12644.

D. S. E. Houankoun. 90. « Importance Socio-Economique du Rônier (Borassus aethiopum): Différents Usages et Commercialisation de Quelques Sous-Produits au Bénin," », 2004.

Dagallier, Léo-Paul M. J., Steven B. Janssens, Gilles Dauby, Anne Blach-Overgaard, Barbara A. Mackinder, Vincent Droissart, Jens-Christian Svenning, et al. 2020. « Cradles and Museums of Generic Plant Diversity across Tropical Africa ». *New Phytologist* 225 (5): 2196-2213. https://doi.org/10.1111/nph.16293.

Davies, T. Jonathan, Barnabas H. Daru, Bezeng S. Bezeng, Tristan Charles-Dominique, Gareth P. Hempson, Ronny M. Kabongo, Olivier Maurin, A. Muthama Muasya, Michelle van der Bank, et William J. Bond. 2020. « Savanna Tree Evolutionary Ages Inform the Reconstruction of the Paleoenvironment of Our Hominin Ancestors ». *Scientific Reports* 10 (1): 12430. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69378-0.

Demenou, Boris. 2018a. « ORIGINE, DIVERSITE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE LA FLORE GUINEO-CONGOLAISE DU DAHOMEY GAP: ORIGIN, DIVERSITY AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE GUINEO-CONGOLIAN FLORA OF THE DAHOMEY GAP », février. http://hdl.handle.net/2013/.

———. 2018b. « ORIGINE, DIVERSITE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE LA FLORE GUINEO-CONGOLAISE DU DAHOMEY GAP: ORIGIN, DIVERSITY AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE GUINEO-CONGOLIAN FLORA OF THE DAHOMEY GAP », février. http://hdl.handle.net/2013/.

Demenou, Boris B., Jean-Louis Doucet, et Olivier J. Hardy. 2018. « History of the Fragmentation of the African Rain Forest in the Dahomey Gap: Insight from the Demographic History of Terminalia Superba ». *Heredity* 120 (6): 547-61. https://doi.org/10.1038/s41437-017-0035-0.

Demenou, Boris B., Rosalía Piñeiro, et Olivier J. Hardy. 2016. « Origin and History of the Dahomey Gap Separating West and Central African Rain Forests: Insights from the Phylogeography of the Legume Tree Distemonanthus Benthamianus ». *Journal of Biogeography* 43 (5): 1020-31. https://doi.org/10.1111/jbi.12688.

Dijk, Erwin L. van, Hélène Auger, Yan Jaszczyszyn, et Claude Thermes. 2014. « Ten Years of Next-Generation Sequencing Technology ». *Trends in Genetics: TIG* 30 (9): 418-26. https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.001.

Djakalia, OUATTARA, KOUAME Djaha, TIEBRE Marie-Solange, et N'GUESSAN Kouakou Edouard. 2016. « Diversité floristique et usages des plantes dans la zone soudanienne du Nord-ouest de la Côte d'Ivoire ». . . *Vol.* 31 (1): 16.

Donkpegan, Armel S.L., Rosalía Piñeiro, Myriam Heuertz, Jérôme Duminil, Kasso Daïnou, Jean-Louis Doucet, et Olivier J. Hardy. 2019. « Population Genomics of the Widespread African Savannah Trees *Afzelia Africana* and *Afzelia Quanzensis* (Caesalpinioideae, Fabaceae) Reveals No Significant Past Fragmentation of Their Distribution Ranges ». Preprint. Plant Biology. https://doi.org/10.1101/730911.

Donou Hounsode, Marcel T., Raoudath Bouraïma, Achille Assogbadjo, Thierry Houehanou, et Romain Lucas Glele Kakaï. 2014. *Evaluation ethnobotanique et socioéconomique de l'exploitation des raphias (Raphia hookeri, R. vinifera et R. sudanica) au Bénin (Afrique de l'Ouest)*.

Dransfield, John, Natalie Uhl, Conny Lange, William Baker, Myles Harley, et C. Lewis. 2008. *Genera Palmarum. The Evolution and Classification of Palms*.

Droissart, Vincent, Gilles Dauby, Olivier J. Hardy, Vincent Deblauwe, David J. Harris, Steven Janssens, Barbara A. Mackinder, et al. 2018. « Beyond Trees: Biogeographical Regionalization of Tropical Africa ». *Journal of Biogeography* 45 (5): 1153-67. https://doi.org/10.1111/jbi.13190.

Duminil, Jérôme, Stefano Mona, Patrick Mardulyn, Charles Doumenge, Frédéric Walmacq, Jean-Louis Doucet, et Olivier J. Hardy. 2015. « Late Pleistocene molecular dating of past population fragmentation and demographic changes in African rain forest tree species supports the forest refuge hypothesis ». *Journal of biogeography* 42 (8): 1443-54.

Dupont, L. M., B. Donner, R. Schneider, et G. Wefer. 2001. « Mid-Pleistocene Environmental Change in Tropical Africa Began as Early as 1.05 Ma ». *Geology* 29 (3): 195-98. https://doi.org/10.1130/0091-7613(2001)029<0195:MPECIT>2.0.CO;2.

Dupont, L. M., et M. Weinelt. 1996a. « Vegetation History of the Savanna Corridor between the Guinean and the Congolian Rain Forest during the Last 150,000 Years ». *Vegetation History and Archaeobotany* 5 (4): 273-92. https://doi.org/10.1007/BF00195296.

———. 1996b. « Vegetation History of the Savanna Corridor between the Guinean and the Congolian Rain Forest during the Last 150,000 Years ». *Vegetation History and Archaeobotany* 5 (4): 273-92. https://doi.org/10.1007/BF00195296.

Dupont, Lydie M., et C. O. C. Agwu. 1992. « Latitudinal Shifts of Forest and Savanna in N. W. Africa during the Brunhes Chron: Further Marine Palynological Results from Site M 16415 (9°;N 19°W) ». *Vegetation History and Archaeobotany* 1 (3): 163-75. https://doi.org/10.1007/BF00191556.

Dupont, Lydie M., Susanne Jahns, Fabienne Marret, et Shi Ning. 2000a. « Vegetation Change in Equatorial West Africa: Time-Slices for the Last 150 Ka ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 155 (1): 95-122. https://doi.org/10.1016/S0031-0182(99)00095-4.

———. 2000b. « Vegetation Change in Equatorial West Africa: Time-Slices for the Last 150 Ka ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 155 (1): 95-122. https://doi.org/10.1016/S0031-0182(99)00095-4.

Dupont, Lydie M., Fabienne Marret, et Kyaw Winn. 1998. « Land-sea correlation by means of terrestrial and marine palynomorphs from the equatorial East Atlantic: phasing of SE trade

winds and the oceanic productivity ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 142 (1): 51-84. https://doi.org/10.1016/S0031-0182(97)00146-6.

Dyer, R.A. 1952. « A note on the distribution of the palms of South Africa with special reference to Borassus in the Transvaal ». *South African Journal of Science*, 48, 215-20.

Edwards, Erika J., Colin P. Osborne, Caroline A. E. Strömberg, Stephen A. Smith, C4 Grasses Consortium, William J. Bond, Pascal-Antoine Christin, et al. 2010. « The Origins of C4 Grasslands: Integrating Evolutionary and Ecosystem Science ». *Science*, avril. https://doi.org/10.1126/science.1177216.

Edwards, Scott V., Sally Potter, C. Jonathan Schmitt, Jason G. Bragg, et Craig Moritz. 2016. « Reticulation, Divergence, and the Phylogeography–Phylogenetics Continuum ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (29): 8025-32. https://doi.org/10.1073/pnas.1601066113.

Escobar, Sebastián, Thomas Couvreur, Rommel Montúfar, et Henrik Balslev. 2019. « The Ivory Palm Phytelephas aequatorialis in Western Ecuador » 63 (mai): 69-79.

Escobar, Sebastián, Andrew J. Helmstetter, Scott Jarvie, Rommel Montúfar, Henrik Balslev, et Thomas L. P. Couvreur. 2021a. « Pleistocene Climatic Fluctuations Promoted Alternative Evolutionary Histories in Phytelephas Aequatorialis, an Endemic Palm from Western Ecuador ». *Journal of Biogeography* n/a (n/a). https://doi.org/10.1111/jbi.14055.

Escobar, Sebastián, Andrew J. Helmstetter, Scott Jarvie, Rommel Montúfar, Henrik Balslev, et Thomas L.P. Couvreur. 2021b. « Pleistocene Climatic Fluctuations Promoted Alternative Evolutionary Histories in Phytelephas Aequatorialis, an Endemic Palm from Western Ecuador ». *Journal of Biogeography* 48 (5): 1023-37. https://doi.org/10.1111/jbi.14055.

FAO. 2001. *La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 2001*. Rome: FAO.

Fayolle, Adeline, Michael D. Swaine, Julie Aleman, Akomian F. Azihou, David Bauman, Mariska te Beest, Emmanuel N. Chidumayo, et al. 2019. « A Sharp Floristic Discontinuity Revealed by the Biogeographic Regionalization of African Savannas ». *Journal of Biogeography* 46 (2): 454-65. https://doi.org/10.1111/jbi.13475.

Forrest, Laura L., Michelle L. Hart, Mark Hughes, Hannah P. Wilson, Kuo-Fang Chung, Yu-Hsin Tseng, et Catherine A. Kidner. 2019. « The Limits of Hyb-Seq for Herbarium Specimens: Impact of Preservation Techniques ». *Frontiers in Ecology and Evolution* 7. https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fevo.2019.00439.

Frédoux, A. 1994. « Pollen analysis of a deep-sea core in the Gulf of Guinea: vegetation and climatic changes during the last 225,000 years B.P ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, Pollen and Climate, 109 (2): 317-30. https://doi.org/10.1016/0031-0182(94)90182-1.

Frichot, Eric, et Olivier François. 2015. « LEA: An R Package for Landscape and Ecological Association Studies ». *Methods in Ecology and Evolution* 6 (8): 925-29. https://doi.org/10.1111/2041-210X.12382.

Gbesso, F., H. Yedomonhan, B. Tente, et A. Akoegninou. 2014. « Distribution Géographique Des Populations de Rôniers ( Borassus Aethiopum Mart, Arecaceae) et Caractérisation Phytoécologique de Leurs Habitats Dans La Zone Soudano-Guinéenne Du Benin ». *Journal of Applied Biosciences* 74 (1): 6099-6111. https://doi.org/10.4314/jab.v74i1.14.

Gbesso, Florence, Arlette Adjatin, Alexandre A. Dansi, et Akpovi Akoegninou. 2016. « Aphrodisiac Properties of Hypocotyls Extracts of Borassus Aethiopum Mart (Arecaceae) Collected in Central of Benin Republic ». *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5 (3): 802-14. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.503.093.

GIFFARD, Pierre Louis. 1967. « LE PALMIER RONIER BORASSUS AETHIOPUM MART. » *Revue bois et foret des tropique*, n° 116: 3-13.

Gomez-Navarro, Carolina, Carlos Jaramillo, Fabiany Herrera, Scott L. Wing, et Ricardo Callejas. 2009. « Palms (Arecaceae) from a Paleocene Rainforest of Northern Colombia ». *American Journal of Botany* 96 (7): 1300-1312. https://doi.org/10.3732/ajb.0800378.

Gruca, Marta, Wanwan Yu, Patrick Amoateng, Morten Agertoug Nielsen, Thomas B. Poulsen, et Henrik Balslev. 2015. « Ethnomedicinal Survey and in Vitro Anti-Plasmodial Activity of the Palm Borassus Aethiopum Mart ». *Journal of Ethnopharmacology* 175 (décembre): 356-69. https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.010.

Guillaumet, J. L., et Philippe Morat. 1990. « Menace sur la flore ». *Les Cahiers d'Outre-Mer* 43 (172): 343-62. https://doi.org/10.3406/caoum.1990.3353.

Helmstetter, Andrew J., Biowa E. N. Amoussou, Kevin Bethune, Narcisse G. Kandem, Romain Glèlè Kakaï, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2019. « Phylogenomic Data Reveal How a Climatic Inversion and Glacial Refugia Shape Patterns of Diversity in an African Rain Forest Tree Species ». *BioRxiv*, octobre, 807727. https://doi.org/10.1101/807727.

Helmstetter, Andrew J., Suzanne Mogue Kamga, Kevin Bethune, Thea Lautenschläger, Alexander Zizka, Christine D. Bacon, Jan J. Wieringa, et al. 2020. « Unraveling the Phylogenomic Relationships of the Most Diverse African Palm Genus Raphia (Calamoideae, Arecaceae) ». *Plants* 9 (4): 549. https://doi.org/10.3390/plants9040549.

Heuertz, Myriam, Jérôme Duminil, Gilles Dauby, Vincent Savolainen, et Olivier J. Hardy. 2014. « Comparative Phylogeography in Rainforest Trees from Lower Guinea, Africa ». *PLOS ONE* 9 (1): e84307. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084307.

Heyduk, Karolina, Dorset W. Trapnell, Craig F. Barrett, et Jim Leebens-Mack. 2016. « Phylogenomic analyses of species relationships in the genus Sabal (Arecaceae) using targeted sequence capture ». *Biological Journal of the Linnean Society* 117 (1): 106-20. https://doi.org/10.1111/bij.12551.

Hiol, François Hiol, et Victor Aimé Kemeuze. 2014. « Les espaces forestiers des savanes et steppes d'Afrique centrale », 19.

Huang, Danwei, Emma E. Goldberg, et Kaustuv Roy. 2015. « Fossils, Phylogenies, and the Challenge of Preserving Evolutionary History in the Face of Anthropogenic Extinctions ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (16): 4909-14. https://doi.org/10.1073/pnas.1409886112.

Issa, I, K Wala, M Dourma, W Atakpama, M Kanda, et K Akpagana. 2018. « Valeur ethno-botanique de l'espèce Khaya senegalensis (Desr.) A. Juss (meliaceae) auprès des populations riveraines de la chaîne de l'Atacora au Togo », 9.

Jacobs, Bonnie F. 2004. « Palaeobotanical Studies from Tropical Africa: Relevance to the Evolution of Forest, Woodland and Savannah Biomes ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 359 (1450): 1573-83. https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1533.

Jacobs, Bonnie F., et Alan L. Deino. 1996. « Test of climate-leaf physiognomy regression models, their application to two Miocene floras from Kenya, and 40Ar/39Ar dating of the Late Miocene Kapturo site ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 123 (1): 259-71. https://doi.org/10.1016/0031-0182(96)00102-2.

Jacobs, Bonnie F., John D. Kingston, et Louis L. Jacobs. 1999. « The Origin of Grass-Dominated Ecosystems ». *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86 (2): 590. https://doi.org/10.2307/2666186.

Jacobs, Bonnie F., Aaron D. Pan, et Christopher R. Scotese. 2010a. « A Review of the Cenozoic Vegetation History of Africa ». In *Cenozoic Mammals of Africa*, édité par Lars Werdelin, 57-72. University of California Press. https://doi.org/10.1525/california/9780520257214.003.0005.

———. 2010b. « A Review of the Cenozoic Vegetation History of Africa ». In *Cenozoic Mammals of Africa*, édité par Lars Werdelin, 57-72. University of California Press.

http://california.universitypressscholarship.com/view/10.1525/california/9780520257214.001.0001/upso-9780520257214-chapter-5.

Jacobs, Bonnie Fine, et Christine H. S. Kabuye. 1989. « An extinct species of Pollia Thunberg (Commelinaceae) from the Miocene Ngorora Formation, Kenya ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 59 (1): 67-76. https://doi.org/10.1016/0034-6667(89)90007-9.

Jean, Fiasson. 1963. « P. Crété. — Précis de Botanique. — Tome I : Morphologie et reproduction des plantes vasculaires. Systématique des Cryptogames vascuaires et des Gymnospermes. — Tome II : Systématique des Angiospermes, Paris ». *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon* 32 (8): 245-46.

Johnson, Matthew G., Elliot M. Gardner, Yang Liu, Rafael Medina, Bernard Goffinet, A. Jonathan Shaw, Nyree J. C. Zerega, et Norman J. Wickett. 2016. « HybPiper: Extracting Coding Sequence and Introns for Phylogenetics from High-Throughput Sequencing Reads Using Target Enrichment ». *Applications in Plant Sciences* 4 (7): 1600016. https://doi.org/10.3732/apps.1600016.

Johnson, Matthew G, Lisa Pokorny, Steven Dodsworth, Laura R Botigué, Robyn S Cowan, Alison Devault, Wolf L Eiserhardt, et al. 2019. « A Universal Probe Set for Targeted Sequencing of 353 Nuclear Genes from Any Flowering Plant Designed Using k-Medoids Clustering ». *Systematic Biology* 68 (4): 594-606. https://doi.org/10.1093/sysbio/syy086.

Jombart, Thibaut. 2008. « adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers ». *Bioinformatics* 24 (11): 1403-5. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129.

Jombart, Thibaut, Sébastien Devillard, et François Balloux. 2010. « Discriminant Analysis of Principal Components: A New Method for the Analysis of Genetically Structured Populations ». *BMC Genetics* 11 (1): 94. https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94.

Katoh, Kazutaka, et Daron M. Standley. 2013. « MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability ». *Molecular Biology and Evolution* 30 (4): 772-80. https://doi.org/10.1093/molbev/mst010.

Kpatènon, Mariano Joly, Kolawolé Valère Salako, Sylvain Santoni, Leila Zekraoui, Muriel Latreille, Christine Tollon-Cordet, Cédric Mariac, Estelle Jaligot, Thierry Beulé, et Kifouli Adéoti. 2020. « Transferability, development of simple sequence repeat (SSR) markers and application to the analysis of genetic diversity and population structure of the African fan palm (Borassus aethiopum Mart.) in Benin ». *BMC Genetics* 21 (1): 145. https://doi.org/10.1186/s12863-020-00955-y.

La Harpe, Marylaure de, Jaqueline Hess, Oriane Loiseau, Nicolas Salamin, Christian Lexer, et Margot Paris. 2019. « A Dedicated Target Capture Approach Reveals Variable Genetic Markers across Micro- and Macro-Evolutionary Time Scales in Palms ». *Molecular Ecology Resources* 19 (1): 221-34. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12945.

Li, Heng. 2011. « A Statistical Framework for SNP Calling, Mutation Discovery, Association Mapping and Population Genetical Parameter Estimation from Sequencing Data ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 27 (21): 2987-93. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr509.

Li, Heng, et Richard Durbin. 2009. « Fast and Accurate Short Read Alignment with Burrows-Wheeler Transform ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 25 (14): 1754-60. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324.

Linder, H. Peter. 2014. « The evolution of African plant diversity ». *Frontiers in Ecology and Evolution* 2. https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fevo.2014.00038.

Lischer, H. E. L., et L. Excoffier. 2012. « PGDSpider: an automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs ». *Bioinformatics* 28 (2): 298-99. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr642.

Logossa, Zénor Ablah, Létizia Camus-Kulandaivelu, François Allal, Alexandre Vaillant, Haby Sanou, Kouami Kokou, et Jean-Marc Bouvet. 2011. « Molecular Data Reveal Isolation by Distance and Past Population Expansion for the Shea Tree (Vitellaria Paradoxa C.F. Gaertn) in West

Africa ». *Molecular Ecology* 20 (19): 4009-27. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05249.x.

Loiseau, Oriane, Ingrid Olivares, Margot Paris, Marylaure de La Harpe, Anna Weigand, Darina Koubínová, Jonathan Rolland, et al. 2019. « Targeted Capture of Hundreds of Nuclear Genes Unravels Phylogenetic Relationships of the Diverse Neotropical Palm Tribe Geonomateae ». *Frontiers in Plant Science* 10: 864. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00864.

Lompo, Djingdia, Barbara Vinceti, Heino Konrad, Hannes Gaisberger, et Thomas Geburek. 2018. « Phylogeography of African Locust Bean (Parkia Biglobosa) Reveals Genetic Divergence and Spatially Structured Populations in West and Central Africa ». *Journal of Heredity*, septembre. https://doi.org/10.1093/jhered/esy047.

Lyam, Paul Terwase, Joaquín Duque-Lazo, Walter Durka, Frank Hauenschild, Jan Schnitzler, Ingo Michalak, Oluwatoyin Temitayo Ogundipe, et Alexandra Nora Muellner-Riehl. 2018. « Genetic Diversity and Distribution of Senegalia Senegal (L.) Britton under Climate Change Scenarios in West Africa ». *PLOS ONE* 13 (4): e0194726. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194726.

Mamanova, Lira, Alison J. Coffey, Carol E. Scott, Iwanka Kozarewa, Emily H. Turner, Akash Kumar, Eleanor Howard, Jay Shendure, et Daniel J. Turner. 2010. « Target-Enrichment Strategies for next-Generation Sequencing ». *Nature Methods* 7 (2): 111-18. https://doi.org/10.1038/nmeth.1419.

Martin, Marcel. 2011. « Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads ». *EMBnet.Journal* 17 (1): 10-12. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200.

Maurin, Olivier, T. Jonathan Davies, John E. Burrows, Barnabas H. Daru, Kowiyou Yessoufou, A. Muthama Muasya, Michelle van der Bank, et William J. Bond. 2014. « Savanna Fire and the Origins of the 'Underground Forests' of Africa ». *New Phytologist* 204 (1): 201-14. https://doi.org/10.1111/nph.12936.

Maxam, A. M., et W. Gilbert. 1977. « A New Method for Sequencing DNA ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (2): 560-64. https://doi.org/10.1073/pnas.74.2.560.

McKenna, Aaron, Matthew Hanna, Eric Banks, Andrey Sivachenko, Kristian Cibulskis, Andrew Kernytsky, Kiran Garimella, et al. 2010. « The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce Framework for Analyzing next-Generation DNA Sequencing Data ». *Genome Research* 20 (9): 1297-1303. https://doi.org/10.1101/gr.107524.110.

Miller, Charlotte S., et William D. Gosling. 2014a. « Quaternary forest associations in lowland tropical West Africa ». *Quaternary Science Reviews* 84 (janvier): 7-25. https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2013.10.027.

———. 2014b. « Quaternary forest associations in lowland tropical West Africa ». *Quaternary Science Reviews* 84 (janvier): 7-25. https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2013.10.027.

Morley, R. J., et K. Richards. 1993. « Gramineae cuticle: a key indicator of Late Cenozoic climatic change in the Niger Delta ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 77 (1): 119-27. https://doi.org/10.1016/0034-6667(93)90060-8.

Ohin, Brice M., Kifouli Adéoti, Sonagnon S. Kouhoundé, Pacôme A. Noumavo, Sabine M. Ogoua, Nansirine Wabi, Marcellin C. Faïnou, Lamine Baba-Moussa, Fatiou Toukourou, et Farid Baba-Moussa. 2018. « Knowledge, Attitudes, and Hygienic Practices of Boiled Hypocotyls ( Borassus Aethiopum Mart) Vended in the Streets of Cotonou City and Its Outskirts, Benin ». *BioMed Research International* 2018 (août): 1-9. https://doi.org/10.1155/2018/4825435.

Ohin, Brice M, Kifouli Adeoti, Pacôme A Noumavo, Sonangnon H S Kouhounde, Kamal Garba, Noel S Tovide, Sabine Ogoua, Lamine Baba-Moussa, Fatiou Toukourou, et Farid Baba-Moussa. 2018. « Technological Processes Itinerary and Socio-Economic Impact Assessment of Borassus Aethiopum Hypocotyles "Agonté" Produced in Centre of Benin Republic ». *Food and Public Health*, 7.

Ouinsavi, Christine, Charlemagne Gbémavo, et Nestor Sokpon. 2011. « Ecological Structure and Fruit Production of African Fan Palm (*Borassus aethiopum*) Populations ». *American Journal of Plant Sciences* 02 (06): 733-43. https://doi.org/10.4236/ajps.2011.26088.

Pan, Aaron, Bonnie Jacobs, John Dransfield, et William Baker. 2006. « The fossil history of palms (Arecaceae) in Africa and new records from the late Oligocene (28-27 Mya) of North-Western Ethiopia ». *Botanical Journal of the Linnean Society* 151 (mai): 69-81. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2006.00523.x.

Piñeiro, Rosalía, Gilles Dauby, Esra Kaymak, et Olivier J. Hardy. 2017. « Pleistocene population expansions of shade-tolerant trees indicate fragmentation of the African rainforest during the Ice Ages ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284 (1866): 20171800. https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1800.

Piñeiro, Rosalía, Olivier J. Hardy, Carolina Tovar, Shyam Gopalakrishnan, Filipe Garrett Vieira, et M. Thomas P. Gilbert. 2021. « Contrasting Genetic Signal of Recolonization after Rainforest Fragmentation in African Trees with Different Dispersal Abilities ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118 (27). https://doi.org/10.1073/pnas.2013979118.

Pipatchartlearnwong, Kwanjai, Akarapong Swatdipong, Supachai Vuttipongchaikij, et Somsak Apisitwanich. 2017. « Genetic Evidence of Multiple Invasions and a Small Number of Founders of Asian Palmyra Palm (Borassus Flabellifer) in Thailand ». *BMC Genetics* 18 (1). https://doi.org/10.1186/s12863-017-0554-y.

« Plastome Phylogeography in Two African Rain Forest Legume Trees Reveals That Dahomey Gap Populations Originate from the Cameroon Volcanic Line ». 2020. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 150 (septembre): 106854. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106854.

« Prairies, savanes et terres arbustives tropicales et subtropicales ». 2020. In *Wikipédia*. https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Prairies,_savanes_et_terres_arbustives_tropicales_et_subtropicales&oldid=176669769.

Rahman, Shaikh Shahinur, Shubho Nanda Chowdhury, Md. Salauddin, Zubaer Hosen, Md. Rezaul Karim, et Shakh MA. Rouf. 2021. « Comparative Studies on Nutrient Content and Antidiabetic Effects of Sugar Palm (Borassus Flabellifer) Fruit Pulp & Endosperm on Rats ». *Endocrine and Metabolic Science*, octobre, 100113. https://doi.org/10.1016/j.endmts.2021.100113.

Rambaut, Andrew, Alexei J Drummond, Dong Xie, Guy Baele, et Marc A Suchard. 2018. « Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7 ». *Systematic Biology* 67 (5): 901-4. https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032.

Ritchie, Andrew M., Nathan Lo, et Simon Y. W. Ho. 2017. « The Impact of the Tree Prior on Molecular Dating of Data Sets Containing a Mixture of Inter- and Intraspecies Sampling ». *Systematic Biology* 66 (3): 413-25. https://doi.org/10.1093/sysbio/syw095.

Rohland, Nadin, et David Reich. 2012. « Cost-Effective, High-Throughput DNA Sequencing Libraries for Multiplexed Target Capture ». *Genome Research* 22 (5): 939-46. https://doi.org/10.1101/gr.128124.111.

Russell, James, Michael R. Talbot, et Brian J. Haskell. 2003a. « Mid-holocene climate change in Lake Bosumtwi, Ghana ». *Quaternary Research* 60 (septembre): 133-41. https://doi.org/10.1016/S0033-5894(03)00065-6.

———. 2003b. « Mid-holocene climate change in Lake Bosumtwi, Ghana ». *Quaternary Research* 60 (septembre): 133-41. https://doi.org/10.1016/S0033-5894(03)00065-6.

Salako, Kolawolé Valère, Francisco Moreira, Rodrigue Castro Gbedomon, Frédéric Tovissodé, Achille Ephrem Assogbadjo, et Romain Lucas Glèlè Kakaï. 2018. « Traditional Knowledge and Cultural Importance of Borassus Aethiopum Mart. in Benin: Interacting Effects of Socio-Demographic Attributes and Multi-Scale Abundance ». *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 14 (1). https://doi.org/10.1186/s13002-018-0233-8.

Salard-Cheboldaeff, M. 1981a. « Palynologie maestrichtienne et tertiaire du cameroun. Resultats botaniques ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 32 (4): 401-39. https://doi.org/10.1016/0034-6667(81)90021-X.

———. 1981b. « Palynologie maestrichtienne et tertiaire du cameroun. Resultats botaniques ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 32 (4): 401-39. https://doi.org/10.1016/0034-6667(81)90021-X.

Salzmann, Ulrich, et Philipp Hoelzmann. 2005. « Le Dahomey Gap : Une Fragmentation Brutale de La Forêt Pluviale d'origine Climatique En Afrique de l'Ouest à La Fin de l'Holocène ». *The Holocene* 15 (2): 190-99. https://doi.org/10.1191/0959683605hl799rp.

Salzmann, Ulrich, Philipp Hoelzmann, et Irena Morczinek. 2002a. « Late Quaternary Climate and Vegetation of the Sudanian Zone of Northeast Nigeria ». *Quaternary Research* 58 (1): 73-83. https://doi.org/10.1006/qres.2002.2356.

———. 2002b. « Late Quaternary Climate and Vegetation of the Sudanian Zone of Northeast Nigeria ». *Quaternary Research* 58 (1): 73-83. https://doi.org/10.1006/qres.2002.2356.

Sambou B, Lawesson J.E, et Barfod A.S. 1992. « Borassus aethiopum, a threatened multiple purpose palm in Senegal. Principes . », 36: 148-155.

Sanger, F., S. Nicklen, et A. R. Coulson. 1977. « DNA sequencing with chain-terminating inhibitors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (12): 5463-67.

Sayyari, Erfan, James B Whitfield, et Siavash Mirarab. 2017. « Fragmentary Gene Sequences Negatively Impact Gene Tree and Species Tree Reconstruction ». *Molecular Biology and Evolution* 34 (12): 3279-91. https://doi.org/10.1093/molbev/msx261.

Schwarze, Katharina, James Buchanan, Jilles M. Fermont, Helene Dreau, Mark W. Tilley, John M. Taylor, Pavlos Antoniou, et al. 2020. « The Complete Costs of Genome Sequencing: A Microcosting Study in Cancer and Rare Diseases from a Single Center in the United Kingdom ». *Genetics in Medicine* 22 (1): 85-94. https://doi.org/10.1038/s41436-019-0618-7.

Sexton, Gary J., C. H. Frere, A. Kalinganire, A. Uwamariya, A. J. Lowe, I. D. Godwin, P. J. Prentis, et M. J. Dieters. 2015. « Influence of Putative Forest Refugia and Biogeographic Barriers on the Level and Distribution of Genetic Variation in an African Savannah Tree, Khaya Senegalensis (Desr.) A. Juss ». *Tree Genetics & Genomes* 11 (5): 103. https://doi.org/10.1007/s11295-015-0933-3.

Siebert, Stefan J., et Madeleen Struwig. 2019. « Borassus Aethiopum Mart. (Arecaceae) in Limpopo Province, with a Key to South African Palms ». *Bothalia* 49 (1): 6. https://doi.org/10.4102/abc.v49i1.2374.

Singh, Jitesh Kumar, Arun Kumar Rout, et Kanchan Kumari. 2021. « A Review on Borassus Flabellifer Lignocellulose Fiber Reinforced Polymer Composites ». *Carbohydrate Polymers* 262 (juin): 117929. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117929.

Smith, Stephen A., Joseph W. Brown, et Joseph F. Walker. 2018. « So Many Genes, so Little Time: A Practical Approach to Divergence-Time Estimation in the Genomic Era ». *PLOS ONE* 13 (5): e0197433. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197433.

Stamatakis, Alexandros. 2014. « RAxML Version 8: A Tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 30 (9): 1312-13. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033.

Stauffer, Fred W., Doudjo N. Ouattara, Didier Roguet, Simona da Giau, Loïc Michon, Adama Bakayoko, et Patrick Ekpe. 2017. « An Update to the African Palms (Arecaceae) Floristic and Taxonomic Knowledge, with Emphasis on the West African Region ». *Webbia* 72 (1): 17-30. https://doi.org/10.1080/00837792.2017.1313381.

Tossou GM. 2002. « Recherche palynologique sur la vegetation Holocene du Sud-Bénin (Afrique de l'Ouest) ». PhD Thesis, Université de Lomé, Togo,136p.

Tranchant-Dubreuil, Christine, Sébastien Ravel, Cécile Monat, Gautier Sarah, Abdoulaye Diallo, Laura Helou, Alexis Dereeper, Ndomassi Tando, Julie Orjuela-Bouniol, et François Sabot. 2018. « TOGGLe, a Flexible Framework for Easily Building Complex Workflows and Performing Robust Large-Scale NGS Analyses ». Preprint. Bioinformatics. https://doi.org/10.1101/245480.

Trauth, Martin H., Juan C. Larrasoaña, et Manfred Mudelsee. 2009. « Trends, Rhythms and Events in Plio-Pleistocene African Climate ». *Quaternary Science Reviews* 28 (5): 399-411. https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2008.11.003.

Weber, Andreas P. M., Katrin L. Weber, Kevin Carr, Curtis Wilkerson, et John B. Ohlrogge. 2007. « Sampling the Arabidopsis Transcriptome with Massively Parallel Pyrosequencing ». *Plant Physiology* 144 (1): 32-42. https://doi.org/10.1104/pp.107.096677.

White, F. 1983. « The Vegetation of Africa. » *Natural Resources Research, UNESCO* 20. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19840692540.

White, F. (Frank). 1983. *The Vegetation of Africa: A Descriptive Memoir to Accompany the Unesco/AETFAT/UNSO Vegetation Map of Africa*. Natural Resources Research ; 20. Paris: Unesco.

YAMEOGO COULIBALY, Gertrude. 2017. « les modes de gestion de borassus aethiopum dans la provience de koulpelogho_Burkina faso ».

Young, Andrew D., et Jessica P. Gillung. 2020. « Phylogenomics — Principles, Opportunities and Pitfalls of Big-Data Phylogenetics ». *Systematic Entomology* 45 (2): 225-47. https://doi.org/10.1111/syen.12406.

Zeng, Chun-Xia, Peter M. Hollingsworth, Jing Yang, Zheng-Shan He, Zhi-Rong Zhang, De-Zhu Li, et Jun-Bo Yang. 2018. « Genome skimming herbarium specimens for DNA barcoding and phylogenomics ». *Plant Methods* 14 (1): 43. https://doi.org/10.1186/s13007-018-0300-0.

Zona, Scott, et Andrew Henderson. 1989. « A REVIEW OF ANIMAL-MEDIATED SEED DISPERSAL OF PALMS ». *Selbyana* 11: 6-21.

# CHAPITRE 4

## Evaluation du niveau de structuration génétique des populations du palmier *Raphia vinifera* P. Beauv., rencontré dans l'Ouest du Cameroun : Impacts anthropique

Auteur : Kpatènon M. J., Helmstetter A., Jaligot E., Adéoti K., Couvreur T.L.P.

Article en préparation …

**Résumé**

**Contexte :** *Raphia vinifera* P. Beauv. est une espèce de palmier qu'on peut retrouver dans la lignée volcanique du Cameroun et qui subit une énorme pression anthropique compte tenu de son importance (alimentaire, économique, socioculturelle, etc.) pour les populations locales. L'espèce étant cultivée depuis des décennies à cause du besoin permanent pour ces nombreux usages, il est difficile en absence d'étude génétique de déterminer l'impact anthropique sur les populations de *R. vinifera* rencontrées dans l'Ouest du Cameroun. Dans la présente étude, nous voulons évaluer l'impact anthropique sur les populations de *R. vinifera* qu'on rencontre dans l'Ouest du Cameroun.

**Matériels et méthodes :** Nous avons collecté 28 individus de *Raphia vinifera* dans 11 localités situées dans l'Ouest du Cameroun. Une approche de capture de gène ciblé utilisant un kit de 176 appâts spécifiques au palmier a été réalisée pour constituer notre base de données. Puis nous avons analysé la structuration génétique au sein des populations de *R. vinifera* avec les SNPs détectés au sein de notre jeu de données. Ensuite, nous avons réalisé un arbre phylogénétique intraspécifique basé sur les distances génétiques à partir des séquences de gène.

**Résultats :** L'analyse réalisée avec les SNPs sur les 28 individus de *R. vinifera* a révélé l'existence d'un seul groupe génétique traduisant une différenciation faible et une absence de structuration génétique. Nos résultats révèlent un important transfert de matériel génétique sous l'action de l'homme dans l'Ouest du Cameroun. Nous proposons que les peuplements de *R. vinifera,* rencontrés dans l'Ouest du Cameroun seraient issus d'une exploitation intensive contrôlée par l'homme.

**Conclusion :** Nous pouvons dire que les populations de *R. vinifera,* rencontrées dans plusieurs localités dans l'Ouest du Cameroun, sont fortement influencées par l'exploitation humaine. Et

l'une des premières conséquences de cette exploitation contrôlée par les populations est l'absence de structuration génétique au sein de ces populations de *Raphia vinifera.*

## Introduction

En Afrique, on dénombre près de 68 espèces de palmier réparties en 18 genres et l'un des genres les plus diversifiés et essentiels aux populations rurales en Afrique subsaharienne est le genre *Raphia* (Stauffer et al., 2017 ; Balick et Beck 1990, Balslev 2011, Brokamp et al 2011, Cosiaux et al. 2018 ; Mogue Kamga et al., 2020). Au sein de ce genre de palmier, *Raphia vinifera* P. Beauv. occupe une place de choix, car il offre de nombreux services écosystémiques aux populations locales et son exploitation dans l'Ouest du Cameroun par exemple remonte à des décennies (Ingram et al. 2010; Mogue Kamga et al. 2020 Cosiaux et Couvreur, 2020). Cependant, d'un point de vue génétique, l'impact anthropique sur la structuration génétique de cette espèce n'a jamais été évalué pour disposer d'information fiable pour sa gestion durable.

*Raphia vinifera* (Figure 1) est un palmier monoïque qui est principalement distribué dans la Lignée Volcanique du Cameroun (LVC), une chaîne de montagne située à l'Ouest du Cameroun et du Nigeria (Mogue Kamga, Sonké, et Couvreur 2019). Avant la clarification systématique faite par Mogue kamga, et al. (2019), cette espèce était connue sous le nom de *Raphia mambillensis* Otedoh. et était considérée comme endémique de la Ligne Volcanique du Cameroun (Mogue kamga, Sonké et Couvreur 2019). Dans l'Ouest du Cameroun, cette espèce est caractéristique des végétations ouvertes encore appelées « grassfields » qu'on retrouve sur les hauts plateaux entre 1000 et 2000 m d'altitude (Cosiaux et Couvreur 2020). Sa présence est également signalée dans d'autres pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre (Bénin, Côte d'Ivoire, République d'Afrique Central et au Sud du Soudan, etc.) bien que les conclusions des recherches ne s'accordent pas véritablement sur toute sa zone de distribution effective (Mogue Kamga et al. 2020). Dans les vallées situées dans la région Ouest du Cameroun, *R. vinifera* forme des peuplements mono-dominants au détriment d'autres espèces de palmier comme le

palmier dattier sauvage (Warnier 1985, Cosiaux et Couvreur, 2020, Morgue Kamga 2021). Au Cameroun, *R. vinifera* est connu sous le nom de Raphia de Bamenda et on le retrouve facilement le long des cours d'eau et vallée qui zigzaguent à travers la végétation ouverte (« grassfield »). D'après Cosiaux et Couvreur (2020), le chef traditionnel de la région Ouest du Cameroun désigne l'espèce comme un moyen de subsistance indispensable et un ingrédient important au style de vie des populations de cette région (Fumtin et Couvreur 2017). *R. vinifera* ou encore palmier Bambou est utile dans divers domaines pour les populations (Figure 2) (alimentaire, médicinal, construction, etc) et on ne lui dénombre pas moins d'une dizaine d'utilisations (Mogue Kamga et al., 2020). Les pétioles et les feuilles sont utilisés dans la fabrication de divers objets d'art, des meubles, des nattes, dans la construction des maisons, etc. La sève, consommée comme vin de palme, est toujours présente dans les cérémonies coutumières ; les graines sont utilisées comme combustible et le tronc pourri est utilisé pour la production de larves comestibles et très prisé par les populations locales. Les fibres extraites des folioles, sont fortement utilisées pour confectionner des pagnes ou d'autres objets spéciaux réservés exclusivement aux notables ou hauts dignitaires de la région de l'Ouest du Cameroun (Knöpfli 1997, Cosiaux et Couvreur, 2020). A cette longue liste d'usages, s'ajoutent les palais royaux encore construits aujourd'hui en bambou de *R. vinifera* (Figure 2) et les anciens conflits entre chefferies traditionnelles au sujet de l'exploitation de cette ressource en raison des pénuries de bambou de *Raphia*. Ceci traduit la grande valeur accordée à l'exploitation de cette espèce (Hutter 1902 ; Cosiaux et Couvreur, 2020).

Le *Raphia* de Bamenda fait face cependant, à de nombreuses pratiques qui menacent ces peuplements comme le prélèvement intensif du vin de *Raphia vinifera* qui empêche la fructification de la plante. Il est également observé un commerce de plantule de *R. vinifera* qui s'intensifie à l'approche de la saison des pluies dans les marchés des localités comme Elak-

Oku, Babadjou, etc (Knöpfli, 2001 ; Cosiaux et Couvreur 2020). L'une des formes d'usage la plus menaçantes pour cette espèce est son utilisation dans la construction des maisons et l'artisanat, car même si le prélèvement intensif de la sêve, des feuilles et du bambou de *Raphia vinifera* ne tue pas le pied-mère, il affaiblit considérablement la plante et réduit sa capacité de reproduction. À cela s'ajoute l'utilisation de la décoction du bourgeon apical pour le traitement de la gonorrhée et d'autres infections génito-urinaires.

Face à ces usages précités qui traduisent un besoin de disponibilité permanente de *R. vinifera*, ce palmier a très tôt été mis en culture dans cette région d'après Cosiaux et Couvreur (2020) pour assurer ces besoins. Il est cultivé à l'intérieur et à l'extérieur des vallées humides situées dans l'Ouest du Cameroun où l'espèce est connue pour y être présente naturellement. Cependant, il est difficile de déterminer selon les mêmes auteurs depuis quand cette espèce a été mise en culture, car cette pratique a été récemment documentée (Cosiaux et Couvreur, 2020). Au regard de ces informations, la question préoccupante est de savoir les conséquences de l'impact anthropique sur la structuration génétique des populations du palmier *Raphia vinifera* rencontrées dans la lignée volcanique du Cameroun. De plus, si elles y sont distribuées naturellement ou sont le résultat d'une gestion active par l'homme. D'après Meirmans et al. (2012), l'analyse de la différenciation génétique des populations est importante pour déterminer l'impact des différents facteurs extérieurs sur l'évolution du flux de gène entre les populations (Meirmans 2012; Dadjo et al. 2020).

Dans cette étude, notre objectif est de déterminer à travers une analyse de structuration génétique si les populations de *R. vinifera* rencontrées dans quelques localités de l'Ouest du Cameroun, sont des peuplements naturels ou reconstruits sous l'action humaine. Nous supposons pour cette étude que (i) en présence d'une importante structuration génétique (formation de groupes génétiques distincts), ces populations seraient des peuplements

naturellement distribués ; et (ii) en cas d'absence de structuration génétique visible, nous pouvons donc déduire que ces populations de *R. vinifera* font part d'une gestion active (via plantation et maintient) par l'homme. Nous allons utiliser les mêmes types de données obtenues par capture comme dans les chapitres 2 et 3 pour notre analyse.



Figure 1 : *Raphia vinifera* dans un champs d'herbe au Cameroun.

Source : Cosiaux et Couvreur, 2020.



Figure 2 : Quelques usages de *R. vinifera* dans l'Ouest du Cameroun et image d'une inflorescence femelle qui porte des fruits de *R. vinifera*.

Source : Cosiaux et Couvreur, 2020.

## 1. Matériel et Méthodes

### *1.1. Collecte des échantillons et extraction d'ADN*

Des échantillons de feuilles ont été collectés dans 11 localités identifiées par Cosiaux et Couvreur (2020) comme étant des régions où le *Raphia vinifera* est fortement exploité par les populations locales. Ces localités sont situées dans l'Ouest du Cameroun, elles sont caractérisées par une végétation herbacée (Figure 3) de type savane. Nous avons prélevé des échantillons de feuille sur 1 à 9 accessions par localité pour un total de 28 individus de *R. vinifera* (Tableau 1).

L'extraction de l'ADN total a été réalisée suivant la méthode de séparation MATAB 4 % pour l'ensemble des 28 individus de *Raphia vinifera*. Le protocole d'extraction et de vérification de la qualité de l'ADN est celui décrit par Faye et al. (2016).

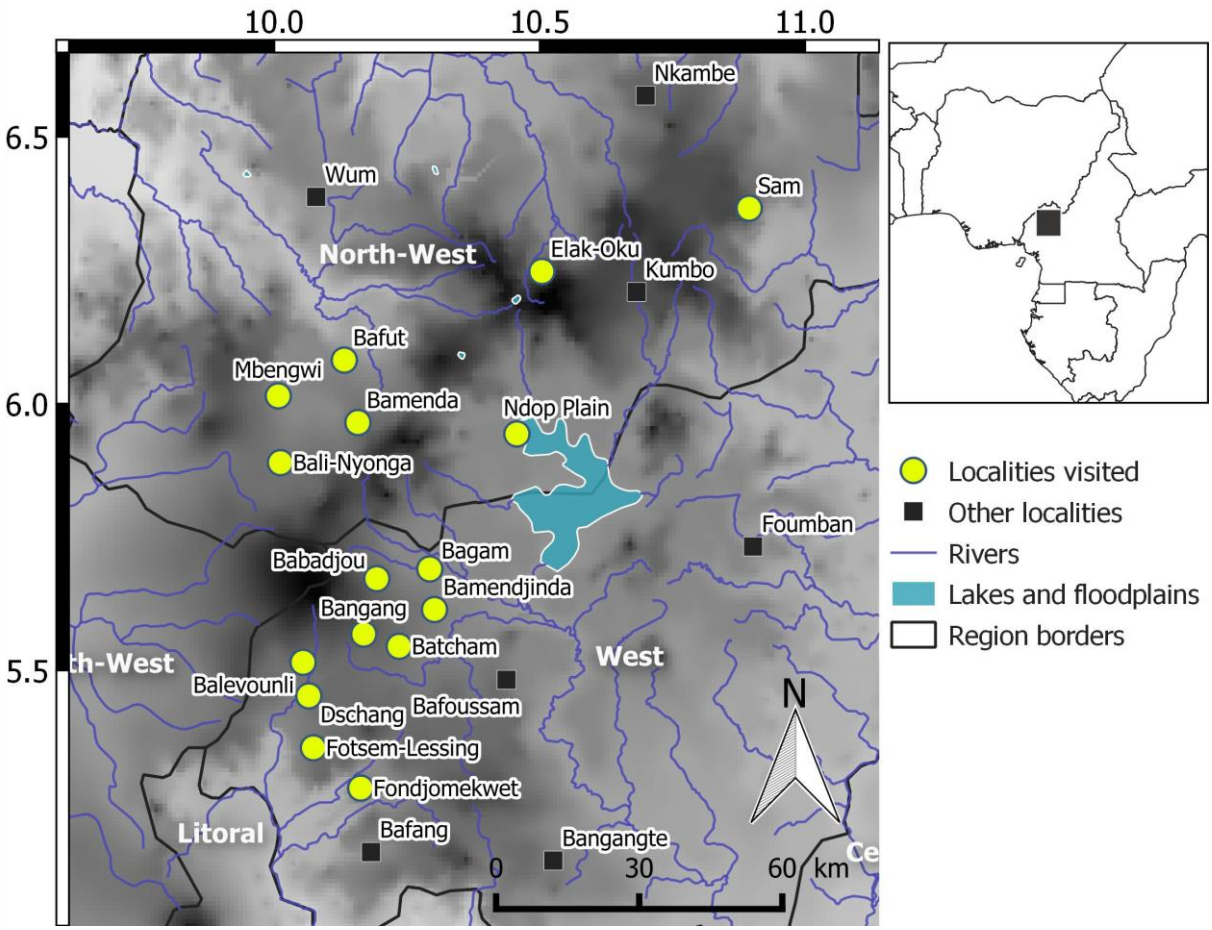


Figure 3 : Zone d'étude et site de collecte d'échantillons dans les localités indiquées en jaune.

Source : Cosiaux et Couvreur, 2020.

Tableau 1 : Liste des individus de *Raphia vinifera* collectés dans l'Ouest du Cameroun.

| N° d'ordre | ID-TAGs | *Nom de l'espèce* | Localité | Pays | Latitude | Longitude |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | RUN41_T19 | *Raphia vinifera* | Babadjou-1 | Cameroun | 5,68424 | 10,19816 |
| 2 | RUN37_T98 | *Raphia vinifera* | Babadjou-2 | Cameroun | 5,69592 | 10,18057 |
| 3 | RUN41_T18 | *Raphia vinifera* | Babadjou-3 | Cameroun | 5,70097 | 10,18881 |
| 4 | RUN41_T17 | *Raphia vinifera* | Bafoussam | Cameroun | 5,3328 | 10,43582 |
| 5 | RUN37_T99 | *Raphia vinifera* | Bali | Cameroun | 5,9097 | 10,03971 |
| 6 | RUN41_T25 | *Raphia vinifera* | Bambili-1 | Cameroun | 6,00769 | 10,24879 |
| 7 | RUN41_T26 | *Raphia vinifera* | Bambili-2 | Cameroun | 6,00723 | 10,26618 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 8 | RUN37_T102 | *Raphia vinifera* | Bie | Cameroun | 6,02633 | 10,27029 |
| 9 | RUN41_T20 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-1 | Cameroun | 6,21641 | 10,46273 |
| 10 | RUN37_T92 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-2 | Cameroun | 6,25354802 | 10,534562 |
| 11 | RUN41_T23 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-3 | Cameroun | 6,23557 | 10,4508 |
| 12 | RUN41_T24 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-4 | Cameroun | 6,25624 | 10,46832 |
| 13 | RUN37_T93 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-5 | Cameroun | 6,2804 | 10,50525 |
| 14 | RUN37_T94 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-6 | Cameroun | 6,27413 | 10,51091 |
| 15 | RUN41_T21 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-7 | Cameroun | 6,23769 | 10,45296 |
| 16 | RUN41_T22 | *Raphia vinifera* | Elack Oku-8 | Cameroun | 6,23903 | 10,45091 |
| 17 | RUN41_T27 | *Raphia vinifera* | Ndop - Oku | Cameroun | 6,12968 | 10,46523 |
| 18 | RUN37_T96 | *Raphia vinifera* | Fongo Tongo-1 | Cameroun | 5,4868 | 10,3886 |
| 19 | RUN37_T97 | *Raphia vinifera* | Fongo Tongo-2 | Cameroun | 5,48034 | 10,05056 |
| 20 | RUN37_T95 | *Raphia vinifera* | Foumban | Cameroun | 5,7726 | 10,92986 |
| 21 | RUN41_T12 | *Raphia vinifera* | Kumbo-1 | Cameroun | 6,36647699 | 10,894598 |
| 22 | RUN37_T87 | *Raphia vinifera* | Kumbo-2 | Cameroun | 6,37351099 | 10,907996 |
| 23 | RUN37_T88 | *Raphia vinifera* | Kumbo-3 | Cameroun | 6,362352 | 10,889888 |
| 24 | RUN41_T13 | *Raphia vinifera* | Kumbo-4 | Cameroun | 6,36066699 | 10,89017 |
| 25 | RUN37_T89 | *Raphia vinifera* | Kumbo-5 | Cameroun | 6,35933301 | 10,888687 |
| 26 | RUN37_T90 | *Raphia vinifera* | Kumbo-6 | Cameroun | 6,35965101 | 10,889201 |
| 27 | RUN37_T91 | *Raphia vinifera* | Kumbo-7 | Cameroun | 6,2092 | 10,663 |
| 28 | RUN37_T100 | *Raphia vinifera* | Njekuro | Cameroun | 5,98077 | 9,95823 |

### *1.2. Capture de gènes, séquençage et traitement des séquences*

Les banques génomiques ont été préparées suivant le protocole de Rohland et Reich (2012) en utilisant une approche de capture de gènes ciblés avec un kit d'appâts spécifiques au palmier de Heyduk et *al*. (2016). Ce kit d'appât cible 176 gènes présents chez différentes espèces de palmiers, et représentant 837 exons et un total de 211 939 paires de bases (MyBaits Target Enrichment Kit, Arbor Biosciences, Michigan, USA). L'ADN total de chaque individu a été cisaillé à une taille de 350 pb à l'aide du dispositif de sonication Bioruptor® Pico (Diagenode). L'ADN a été ensuite réparé, ligaturé et entaillé avant d'être amplifié suivant 10 cycles pour l'étape de pré-hybridation. Puis l'ADN a été nettoyé, quantifié et les échantillons ont été regroupés dans deux bibliothèques à laquelle nous avons ajouté les appâts marqués à la biotine afin d'hybrider les régions ciblées du lot de sonde utilisé (Heyduk et *al*. 2016). Ensuite des billes magnétiques enroulées de streptavidine pour immobiliser les sondes marquées à la biotine en présence d'un champ magnétique ont été utilisées. Les fragments d'ADN enrichie capturés ont été élués des billes magnétiques. Après ajoute des adaptateurs, les fragments ont été amplifiés avec un PCR à temps réel (RT-PCR) pendant 15 cycles pour lier les adaptateurs et constituer les bibliothèques finales. À la suite de cet enrichissement, un séquençage haut débit Illumina MiSeq (v3, paired-end, longueur 150 pb) des banques ainsi obtenues a été effectué comme décrit dans Helmstetter et *al*. (2020) sur la plateforme du CIRAD de Montpellier, France.

Le prétraitement des données ainsi que les analyses qui ont suivi ont été réalisés sur la plateforme SouthGreen (https://www.southgreen.fr/). Le protocole bio-informatique décrit par Couvreur et *al*. (2019) a été utilisé pour filtrer et nettoyer les séquences brutes (raw reads). Le démultiplexage a été effectué avec un seuil 0-mistmatch en utilisant le script demultadapt ( https://github.com/Maillol/demultadapt ). Les adaptateurs ont été localisés et supprimés à l'aide du programme Cutadapt v1.2.1 (Martin 2011) en utilisant les paramètres par défaut. Les

séquences ainsi nettoyées ont été filtrées et leur qualité a été contrôlée en utilisant le script suivant:

https://github.com/SouthGreenPlatform/arcad-hts/blob/master/scripts/arcad_hts_2_Filter_Fastq_On_Mean_Quality.pl avec les paramètres suivants : longueur >35 pb et qualité moyenne Q>30. Les séquences (reads) sens et antisens ont ensuite été appariées suivant leur nom dans le fichier fastq en utilisant un script de comparaison adapté de l'outil TOGGLE (Tranchant-Dubreuil et al. 2018). Les 6 derniers nucléotides des séquences antisens d'une longueur inférieure à 150 pb ont été supprimés à l'aide du script fastx trimmer qui fait partie du pack 'fastx' (https://github.com/agordon/fastx_toolkit).

### *1.3. Formatage des données de capture prétraitées*

Les données obtenues à partir du séquençage des 28 individus de *Raphia vinifera* ont été, prétraitées, puis analysées avec le pipeline HybPiper (v1.2) (Johnson et *al.* 2016) suivant la méthode décrite dans Couvreur et al. (2019), en utilisant les paramètres par défaut. En résumé, le positionnement (mapping) des séquences sur les références (Heyduk et *al.* 2016) a été effectué à l'aide de BWA (v0.7.12) (Li et Durbin 2009), puis l'assemblage des séquences correctement mappées en contig a été réalisé avec SPAdes (v3.11.1) (Bankevich et *al*. 2012). L'alignement des séquences (supercontigs) a été réalisé à l'aide de MAFFT (v7.305) (Katoh et Standley 2013) avec l'option « --auto » et le nettoyage de ces alignements a été réalisé avec GBLOCKS (v0.91b) (Castresana 2000) en utilisant les paramètres par défaut.

Le programme HybPiper détecte aussi les potentiels loci paralogues lorsque plusieurs contigs correspondent à une seule séquence de référence. HybPiper utilise la couverture et l'identité à une séquence référence pour sélectionner la séquence principale et identifie les autres comme paralogues. Pour s'assurer que les loci identifiés sont de vrais paralogues, nous avons construit

avec ces loci des arbres de gène à l'aide de RAxML (v8.2.9; Stamatakis 2014) en utilisant le modèle GTR + G. Le support des nœuds des arbres a été calculé en utilisant l'option '-fa' pour réaliser 100 bootstrap. La cohérence des arbres a été examinée manuellement comme décrit dans Helmstetter et *al*. (2020) et Couvreur et *al.* 2019). Les loci correspondant aux séquences identifiées comme de vrais paralogues sont intégralement supprimés de la suite des analyses. Ensuite, à partir de l'ensemble de données de *R. vinifera*, nous avons appliqué notre critère de sélection comme dans les chapitres 2 et 3 afin de réduire également les données manquantes et le nombre d'arbres de gènes erronés (Sayyari, Whitfield, et Mirarab 2017). Puis nous avons ajouté des séquences vides lorsque des individus manquaient dans les alignements de locus et nous avons concaténé les loci avec la fonction pxcat de phyx (Brown et al. 2017).

### *1.4. Appel à SNPs*

Afin de déterminer le niveau de structuration génétique au sein de ces populations de *Raphia vinifera*, nous avons réalisé un appel à SNP avec SeCaPr (v1.1.4 ; Andermann et *al*. 2018) et analysé la structuration génétique à partir des SNPs détectés. Nous avons fait correspondre nos paires de lecture avec les pseudo séquences références à l'aide de BWA (v0.7.12 ; Li et Durbin 2009). Ensuite, nous avons fait l'appel à SNP avec HaplotypeCaller dans GATK (v4.0 ; McKenna et al. 2010) en prenant le soin de supprimer en amont les doublons. Les SNPs obtenus ont été filtrés et nettoyés avec BCftools (v1.9 ; Li 2011) avec les paramètres de qualité suivante : mapping (> 40 %), profondeur (> 25 %), qualité par profondeur (> 2), profondeur minimum par individus (> 10). Les SNPs ayant une fréquence allélique faible (< 0.01) et ceux avec des sites monomorphes ont été supprimés.

### *1.5. Groupe génétique et structuration génétique*

Le niveau de structuration génétique au sein de notre collection de *Raphia vinifera* est déterminé en réalisant une analyse discriminatoire des composantes principales (DAPC) (Jombart, Devillard, et Balloux 2010). La fonction *find.clusters* implémentée dans le package R 'adegenet' (Jombart 2008) a été utilisée pour identifier les groupes génétiques en utilisant des valeurs moyennes de K (nombre de groupes génétiques) successives avec 100 000 interactions pour chaque valeur de K et un seuil maximal de K = 20. La valeur de K la mieux appropriée a été identifiée en examinant l'évolution de la courbe du critère d'information bayésien (BIC). Nous avons défini la diversité parmi les groupes génétiques identifiés avec la fonction dapc et le nombre optimal de PCs a été défini avec la fonction optim.a.score du package R 'adegenet' (Jombart, 2008).

Au cours d'une deuxième phase, nous avons utilisé le package R-LEA (Frichot et François 2015) dans R (v 4.0.1; R Core team, 2021), complémenté par les sources http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/Conversion.R et http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/POPSutilities.R, afin d'estimer les coefficients d'ascendance à partir de la matrice des génotypes et pour évaluer le nombre de populations ancestrales (snmf, pca) au moyen d'une méthode statistique. Il effectue également des tests statistiques en utilisant des modèles mixtes à facteurs latents pour identifier les polymorphismes génétiques qui présentent une association avec des gradients environnementaux ou des traits phénotypiques (lfmm et lfmm2). Cette approche a également été utilisée, car R-LEA prend en compte les informations de localisation géographique pour la représentation spatiale des groupes génétiques identifiés dans la zone d'étude. La valeur du paramètre de différenciation génétique (Fst) a également été calculée avec R-LEA. La fonction objt.snmf a été utilisée avec des valeurs possibles de K allant de 1 à 10 avec 10 répétitions par valeur de K et une tolérance de 0.00001. La courbe d'entropie croisée a été analysée pour déterminer la meilleure valeur de K, puis la

valeur de l'indice de structuration génétique (Fst) a été calculée pour la valeur de K choisie en utilisant la fonction fst.values sur l'objt.snmf. La matrice ancestrale (appartenance des individus par groupe génétique) obtenue pour cette valeur de K a ensuite été représentée.

### *1.6. Evaluation des relations génétiques au sein des populations de R. vinifera*

À partir du fichier concaténé résultant du formatage des données, nous avons construit un réseau de voisinage phylogénétique avec SplitsTree (v4.14.6) (Huson et Bryant 2006) afin d'évaluer la proximité génétique chez *R. vinifera* entre les individus des différentes localités. Ici, nous avons utilisé la matrice des distances génétiques moyenne non corrigée (''uncorrected_P'') par paire d'individus pour générer un arbre génétique avec la méthode UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) utilisant 1000 réplications bootstrap.

## 2. Résultats

### *2.1. Données de capture*

Nous avons généré à partir du séquençage haut débit des ADN extraits un total de 37,1 millions de séquences brutes pour les 28 individus de *Raphia vinifera* (Cf annexe, tableau 4). Nous avons obtenu 23,76 % de lecture unique avec une profondeur de couverture moyenne de 54,1 x.

### *2.2. Appel à SNPs et structuration génétique*

L'analyse de la structuration génétique chez *R. vinifera*, réalisée avec DAPC a permis d'identifier 1428 SNPs à partir de 124 loci différents, sans données manquantes. Nous avons retenu 25 composantes principales après la validation croisée, puis après analyse de la courbe du critère d'information bayésien (BIC) un seul groupe génétique a été identifié pour l'ensemble des populations des différents sites collectés dans l'Ouest du Cameroun (Figure 4A).

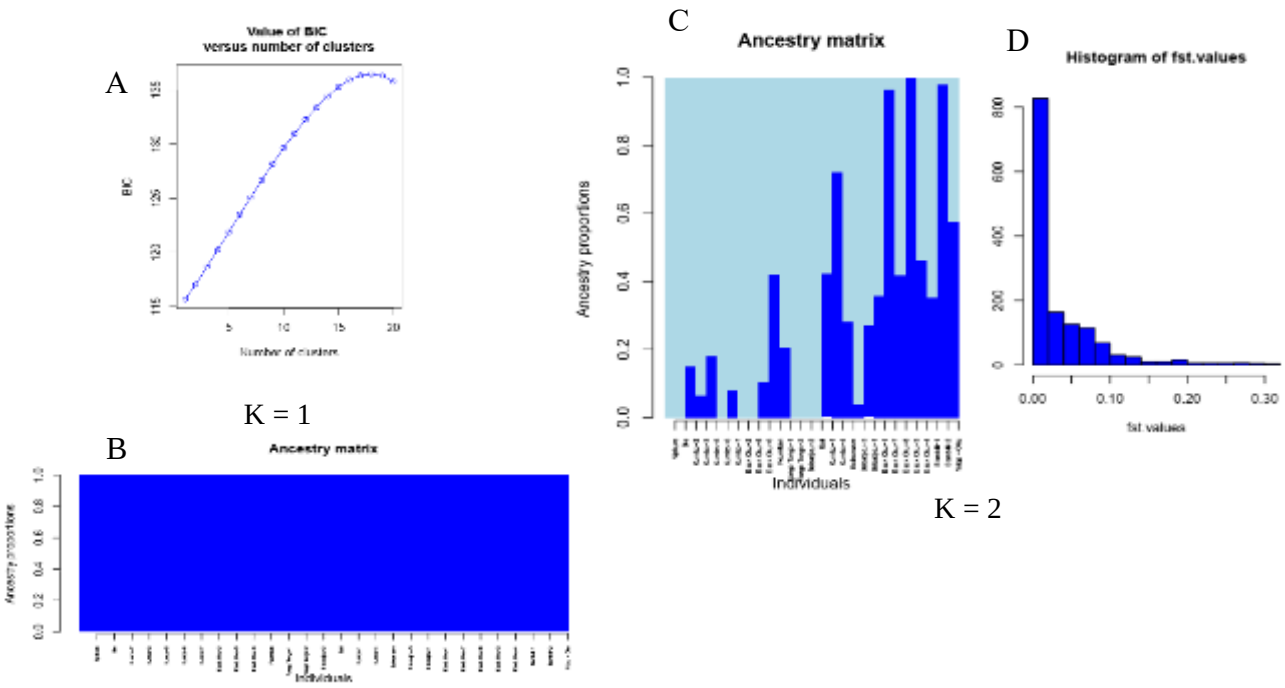


Figure 4 : Analyse de structuration génétique au sein des populations de *R. vinifera*, réalisé avec DAPC et R-LEA. A : courbe des différentes valeurs de K obtenu avec DAPC ; B : graphe montrant l'affectation des individus au groupe génétique pour K = 1 (la coloration bleue représente le seul groupe génétique qui comporte les 28 individus de *R. vinifera* obtenu avec R-LEA. C : graphe montrant l'affectation des individus pour K = 2 (chaque couleur correspond à un groupe génétique). D : graphe montrant la représentation de la fréquence des valeurs de différenciation génétique (Fst < 0,05) obtenu avec R-LEA pour K = 2.

R-LEA a également identifié un seul groupe génétique chez *Raphia vinifera* au sein des populations collectées dans l'Ouest du Cameroun. L'ensemble des 28 individus se retrouve donc dans un même groupe génétique (Figure 4B). Cependant, à k = 2, nous avons le premier groupe qui rassemble 20 individus (Ndjekuro ; Bie ; Kumbo 1, 2, 3, 5, 6 et 7 ; Elack Oku 2, 5 et 6 ; Foumban ; Fongo Tongo 1 et 2 ; Babadjou 2, 3 et 1 ; Bali ; Bafoussam et Bambili 1). Le deuxième groupe contient 8 individus (Kumbo 4 et 1 ; Elack Oku 7, 8, 3 et 4 ; Ndop Oku et Bambili 2) (Figure 4C). Les individus collectés dans la localité de Elack Oku semblent présenter des individus qui appartiennent aux deux groupes génétiques (Figure 4C). La faible valeur de différenciation génétique (Fst < 0,05) pour k = 2 révèle une absence de structuration génétique.

Nous retenons donc un seul groupe génétique chez *R. vinifera* pour l'ensemble des localités collectées.

### *2.3. Relation génétique entre les différents individus de R. vinifera des différentes localités collectées*

A partir des séquences brutes alignées et mappées sur les séquences références, nous avons reconstruit 172 loci sur un total de 176 appâts utilisés pour la capture de gène ciblé. HybPiper a détecté 85 loci répondant aux critères de sélection 75/75 dont 13 loci paralogues ont été supprimés donnant ainsi un sous-ensemble de 72 gènes que nous avons concaténés en un seul fichier.

L'arbre basé sur la matrice des distances génétiques moyenne non corrigée (''uncorrected_P'') par paire entre les individus obtenu (Figure 5) montre les relations génétiques entre les différents individus de *R. vinifera*. Notre arbre, basé sur les distances génétiques, ne présente pas de clade ou de regroupement distinct entre les individus. Aucun regroupement en cluster ni par localité n'est observé sur notre arbre génétique (Figure 5). L'arbre phylogénétique résultant de notre analyse présente tout simplement un mélange des individus provenant des différentes localités (Figure 4) sans véritable distinction d'un point de vue distance génétique.

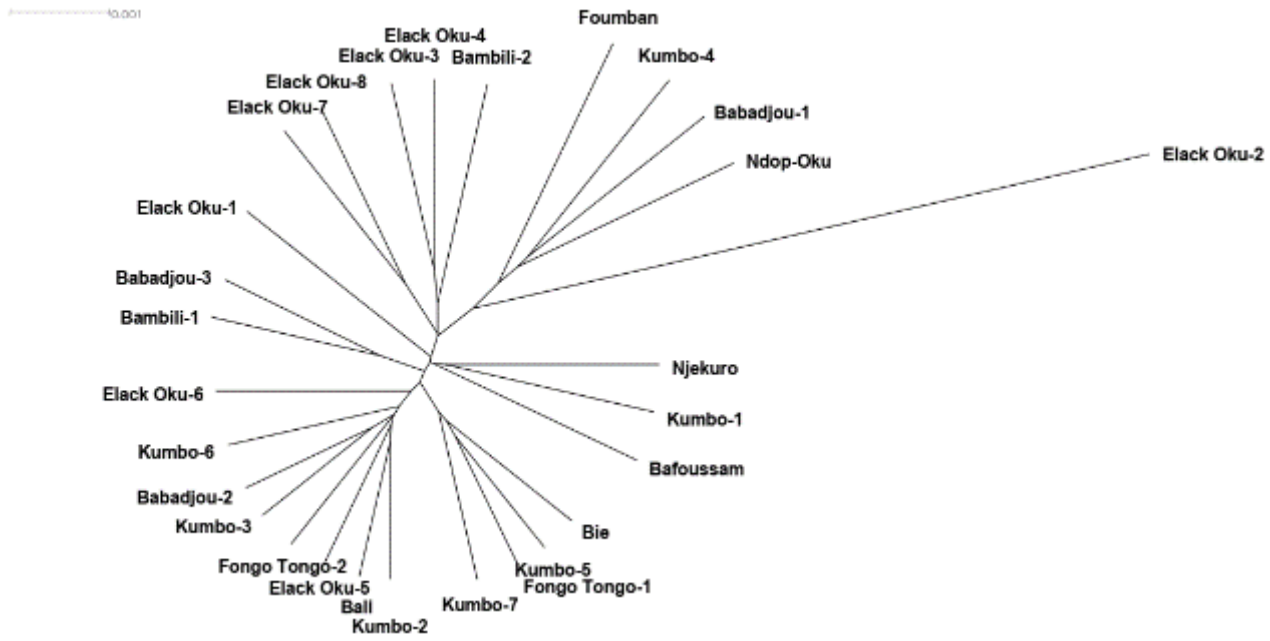


Figure 5 : Arbre phylogénétique obtenu à partir de la matrice des distances génétiques moyenne non corrigée (''uncorrected_p'') par paire avec la méthode UPGMA (''uniweighted pair group methode with arithmetic mean'') avec 1000 réplication bootstrap.

## 3. Discussion

La détermination de la différenciation génétique est un moyen efficace pour évaluer l'impact des différents facteurs extérieurs sur l'évolution du flux de gène entre les populations (Meirmans 2012; Dadjo et *al*. 2020). Notre analyse de structuration génétique réalisée chez *R. vinifera* dans l'Ouest du Cameroun n'a révélé aucune structuration génétique (Figure 4B). Ces observations sont soutenues par de faibles valeurs de différenciation génétique (Fst < 0,05 ; Figure 4D). D'après Wright (1978) un indice de différenciation génétique inférieur à 0,05 traduit une faible différenciation. Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus dans d'autres études de structuration génétique chez d'autres espèces de palmier réalisées à des niveaux national ou régional (Aberlenc-Bertossi et *al*. 2014; Bakoumé et *al*. 2015; Pipatchartlearnwong et *al*. 2017; Kpatènon et *al*. 2020). Cependant, nos observations sont concordantes à ceux qu'on retrouve couramment chez les espèces cultivées où on note une

absence de structuration génétique comme le *Garcinia kola* (Dadjo et al. 2020). L'absence de structuration révélée par nos résultats (Figure 4B et 5) pourrait laisser penser à un important flux de gènes entre les peuplements de *R. vinifera* de ces localités. Nous savons cependant, que *R. vinifera* est une espèce de palmier monoïque (fleur mâle et femelle portée par le même pied) (Mogue kamga et al. 2019), on pouvait donc s'attendre à une structuration géographique. Car chez les espèces monoïques, la fécondation se fait généralement entre la fleur mâle et femelle du même pied et donc pas nécessairement besoin de pollen provenant d'un autre pied distant. Cependant dans certains cas la fleure femelle se développe plus vite que la fleure mal et dans ce cas la fécondation peut se réaliser avec des pollens provenant d'un autre pied. Ceci étant il apparait évident qu'on pourrait avoir une structuration géographique. De plus, la distance physique et les barrières géographiques comme le mont Oku (chaîne de montagne qui sépare Elack oku, Kumbo et Bafoussam) existant dans l'Ouest du Cameroun pourraient participer à une structuration génétique au sein des populations du palmier bambou. Il faut préciser que le paysage dans l'Ouest du Cameroun est aussi très montagneux avec des vallons, des vallées et des collines qui séparent les différentes populations de ces localités collectées. Nous savons aussi que *R. vinifera* se reproduit par drageons et d'après Cosiaux et Couvreur (2020), les plantules de *R. vinifera* sont commercialisées dans les marchés de certaines localités à l'approche des saisons favorables à la culture du palmier bambou. Ceci pourrait être la raison pour laquelle ces individus de *R. vinifera*, rencontrés dans plusieurs localités dans l'Ouest du Cameroun, se présentent ici en un seul groupe génétique. De pareilles observations sont conformes à celles faites sur d'autres espèces menacées comme *Cycad balansae, Pulsatilla patens* (Xiao et Gong 2006; Szczecińska et al. 2016) ou fortement cultivées comme *Oryza glaberrima* (Ndjiondjop et al. 2017).

D'après Mogue Kamga et al. (2020), *R. vinifera* est très prisé dans les hautes terres de l'Ouest du Cameroun pour la qualité de la sève utilisée pour la production du vin de palme (Ayogu 1999 ; Obahiagbon 2009 ; Mogue Kamga et al. 2020). Nous pensons donc que ces propriétés recherchées sur le palmier bambou peuvent être à l'origine de la commercialisation des plantules de certains pieds de *R. vinifera* au détriment d'autres au fil du temps à cause de la qualité de la sève ou du bambou produit par ces derniers. Ceci confirmerait nos résultats et notre hypothèse selon laquelle les populations rencontrées à l'Ouest du Cameroun seraient des peuplements reconstitués par l'homme à cause de l'importance de l'espèce. Aussi de pareilles absences de structuration chez *R. vinifera* peuvent aussi s'expliquer par une potentielle exploitation encadrée par les chefs traditionnels ou associations d'exploitants qui s'accompagnait d'une sélection et d'échange de matériel sur plusieurs années (culture contrôlée de l'espèce) (Huang et al. 2012; Ndjiondjop et al. 2017). De plus d'après Cosiaux et Couvreur (2020), *R. vinifera* est une espèce cultivée depuis des décennies dans l'Ouest du Cameroun et cette culture est accompagnée d'une sélection des plantules de *R. vinifera* en fonction de la qualité de la seve et du bambou récolté sur le palmier (Cosiaux et Couvreur 2020 ; Mogue Kamga et al. 2020). De pareilles observations en rapport avec l'importance de l'espèce et la forte influence humaine dans son expansion avaient été documentées sur la base d'enquête ethnobotanique par plusieurs auteurs (stauffer et al, 2014; Mogue Kamga et al 2018, 2019 et 2020 ; Cosiaux et Couvreur, 2020). Nos résultats révèlent le fort impact humain dans le transfert de matériel génétique même malgré les barrières géographiques existant et son impact sur la structuration génétique du palmier bambou. Nous postulons donc pour l'hypothèse que les peuplements rencontrés dans ces localités de l'Ouest du Cameroun seraient des populations reconstituées par l'homme pour ces besoins. Nos résultats sont préliminaires et basés sur un faible nombre d'échantillons ; avec une étude plus complète de diversité génétique et

structuration génétique, cette hypothèse pourra être davantage explorée avec un échantillonnage plus large et plus représentatif des différentes populations de *R. vinifera* dans sa zone de distribution.

**Conclusion**

Dans cette première étude de la structuration génétique de *R. vinifera* dans la région Ouest du Cameroun nous apportons ici des données génétiques pouvant contribuer à la mise en place des stratégies de gestion responsable et durable. Nous avons identifié un seul groupe génétique et observé une faible structuration génétique chez les populations de *R. vinifera* rencontrées dans l'Ouest du Cameroun. En absence de structuration, nos résultats appuient l'hypothèse d'un important transfert de matériel génétique sous l'action humaine. Cela voudrait dire que la distribution de *R. vinifera* dans le paysage de la LVC serait d'origine principalement anthropique, plutôt que naturelle. Nous trouvons qu'il est urgent sur la base de nos résultats de développer des stratégies pour encadrer l'exploitation des ressources génétiques du *R. vinifera*. Afin de protéger cette espèce et d'éviter la disparition totalement de peuplements naturelles, ce qui pourrait en conséquence la faire passer d'un statut de « préoccupation mineure » attribuer par l'UICN actuellement à un statut « d'espèce menacé ». Cependant, notre échantillonnage ne couvrant qu'une partie de l'aire de distribution de *R. vinifera* il serait interessant de revisiter l'étude de la diversité et de la structuration génétique de cette espèce avec un échantillonnage plus large afin de confirmé ces résultats.

## Références bibliographiques

Aberlenc-Bertossi, Frédérique, Karina Castillo, Christine Tranchant-Dubreuil, Emira Chérif, Marco Ballardini, Sabira Abdoulkader, Muriel Gros-Balthazard, et al. 2014. « In silico mining of microsatellites in coding sequences of the date palm (Arecaceae) genome, characterization, and transferability1 ». *Applications in Plant Sciences* 2 (1). https://doi.org/10.3732/apps.1300058.

Alexandros Stamatakis. 2016. *The RAxML v8.2.X Manual*.

Andermann, Tobias, Ángela Cano, Alexander Zizka, Christine Bacon, et Alexandre Antonelli. 2018. « SECAPR-a Bioinformatics Pipeline for the Rapid and User-Friendly Processing of Targeted Enriched Illumina Sequences, from Raw Reads to Alignments ». *PeerJ* 6 (janvier): e5175. https://doi.org/10.7717/peerj.5175.

Attaque, Alix, et Fin. 2020. « Impact du paysage et des activités humaines sur la structuration génétique du chat forestier (Felis silvestris) en Wallonie et au Luxembourg. » *Université de Liège > Master biol. orga. & écol.*, août. https://matheo.uliege.be/handle/2268.2/9851.

Bakoumé, C., R. Wickneswari, S. Siju, N. Rajanaidu, A. Kushairi, et N. Billotte. 2015. « Genetic Diversity of the World's Largest Oil Palm (Elaeis Guineensis Jacq.) Field Genebank Accessions Using Microsatellite Markers ». *Genetic Resources and Crop Evolution* 62 (3): 349-60. https://doi.org/10.1007/s10722-014-0156-8.

Balslev, Henrik. 2011. « Palm Harvest Impacts in North-Western South America ». *The Botanical Review* 77 (4): 370-80. https://doi.org/10.1007/s12229-011-9083-y.

Bankevich, Anton, Sergey Nurk, Dmitry Antipov, Alexey A. Gurevich, Mikhail Dvorkin, Alexander S. Kulikov, Valery M. Lesin, et al. 2012. « SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing ». *Journal of Computational Biology: A Journal of Computational Molecular Cell Biology* 19 (5): 455-77. https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021.

Beck, Edité par Michael J. Balick et Hans T. 1990. *Palmiers utiles du monde: Une bibliographie synoptique*. Presse universitaire de Columbia.

Branch, Carrie L., Joshua P. Jahner, Dovid Y. Kozlovsky, Thomas L. Parchman, et Vladimir V. Pravosudov. 2017. « Absence of Population Structure across Elevational Gradients despite Large Phenotypic Variation in Mountain Chickadees (Poecile Gambeli) ». *Royal Society Open Science* 4 (3): 170057. https://doi.org/10.1098/rsos.170057.

Brokamp, Grischa, Natalia Valderrama, Moritz Mittelbach, César A. Grandez R., Anders S. Barfod, et Maximilian Weigend. 2011. « Trade in Palm Products in North-Western South America ». *The Botanical Review* 77 (4): 571-606. https://doi.org/10.1007/s12229-011-9087-7.

Castresana, J. 2000. « Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis ». *Molecular Biology and Evolution* 17 (4): 540-52. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334.

Cosiaux, Ariane, et THOMAS L.P. COUVREUR. 2020. « Palms and People: Raphia Vinifera Usage and Cultivation in the Grassfields of Western » 64: 15.

Couvreur, Thomas L. P., Andrew J. Helmstetter, Erik J. M. Koenen, Kevin Bethune, Rita D. Brandão, Stefan A. Little, Hervé Sauquet, et Roy H. J. Erkens. 2019. « Phylogenomics of the Major Tropical Plant Family Annonaceae Using Targeted Enrichment of Nuclear Genes ». *Frontiers in Plant Science* 9: 1941. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01941.

Dadjo, Colombe, Aggrey B. Nyende, Nasser Yao, Ngeno Kiplangat, et Achille E. Assogbadjo. 2020. « Genome-Wide Genetic Diversity and Population Structure of Garcinia Kola (Heckel) in Benin Using DArT-Seq Technology ». *PLOS ONE* 15 (9): e0238984. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238984.

Demenou, Boris B., Jérémy Migliore, Myriam Heuertz, Franck K. Monthe, Dario I. Ojeda, Jan J. Wieringa, Gilles Dauby, Laura Albreht, Arthur Boom, et Olivier J. Hardy. 2020. « Plastome

Phylogeography in Two African Rain Forest Legume Trees Reveals That Dahomey Gap Populations Originate from the Cameroon Volcanic Line ». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 150 (septembre): 106854. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106854.

Donou Hounsode, Marcel T., Raoudath Bouraïma, Achille Assogbadjo, Thierry Houehanou, et Romain Lucas Glele Kakaï. 2014. *Evaluation ethnobotanique et socioéconomique de l'exploitation des raphias (Raphia hookeri, R. vinifera et R. sudanica) au Bénin (Afrique de l'Ouest)*.

FORENET. 2010. « Subregional workshop on harmonization of national reviews on "Non-timber forest products (NTFPs) in Central Africa", Douala ».

Frankham, Richard. 1996. « Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife ». *Conservation Biology* 10 (6): 1500-1508. https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10061500.x.

Frichot, Eric, et Olivier François. 2015. « LEA: An R Package for Landscape and Ecological Association Studies ». *Methods in Ecology and Evolution* 6 (8): 925-29. https://doi.org/10.1111/2041-210X.12382.

Helmstetter, Andrew J., Suzanne Mogue Kamga, Kevin Bethune, Thea Lautenschläger, Alexander Zizka, Christine D. Bacon, Jan J. Wieringa, et al. 2020. « Unraveling the Phylogenomic Relationships of the Most Diverse African Palm Genus Raphia (Calamoideae, Arecaceae) ». *Plants* 9 (4): 549. https://doi.org/10.3390/plants9040549.

Heyduk, Karolina, Dorset W. Trapnell, Craig F. Barrett, et Jim Leebens-Mack. 2016. « Phylogenomic analyses of species relationships in the genus Sabal (Arecaceae) using targeted sequence capture ». *Biological Journal of the Linnean Society* 117 (1): 106-20. https://doi.org/10.1111/bij.12551.

Huang, Xuehui, Nori Kurata, Xinghua Wei, Zi-Xuan Wang, Ahong Wang, Qiang Zhao, Yan Zhao, et al. 2012. « A Map of Rice Genome Variation Reveals the Origin of Cultivated Rice ». *Nature* 490 (7421): 497-501. https://doi.org/10.1038/nature11532.

Huson, Daniel H., et David Bryant. 2006. « Application of Phylogenetic Networks in Evolutionary Studies ». *Molecular Biology and Evolution* 23 (2): 254-67. https://doi.org/10.1093/molbev/msj030.

Ingram, Verina, Ousseynou Ndoye, Donald Midoko Iponga, Julius Chupezi Tieguhong, et Robert Nasi. 2010. « Non-Timber Forest Products: Contribution to National Economy and Strategies for Sustainable Management », 19.

Ingram, Verina, et Jolien Schure. 2010. « Review of Non Timber Forest Products (NTFPs) in Central Africa », 177.

Johnson, Matthew G., Elliot M. Gardner, Yang Liu, Rafael Medina, Bernard Goffinet, A. Jonathan Shaw, Nyree J. C. Zerega, et Norman J. Wickett. 2016. « HybPiper: Extracting Coding Sequence and Introns for Phylogenetics from High-Throughput Sequencing Reads Using Target Enrichment ». *Applications in Plant Sciences* 4 (7): 1600016. https://doi.org/10.3732/apps.1600016.

Jombart, Thibaut. 2008. « adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers ». *Bioinformatics* 24 (11): 1403-5. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129.

Jombart, Thibaut, Sébastien Devillard, et François Balloux. 2010. « Discriminant Analysis of Principal Components: A New Method for the Analysis of Genetically Structured Populations ». *BMC Genetics* 11 (1): 94. https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94.

Katoh, Kazutaka, et Daron M. Standley. 2013. « MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability ». *Molecular Biology and Evolution* 30 (4): 772-80. https://doi.org/10.1093/molbev/mst010.

Kpatènon, Mariano Joly, Kolawolé Valère Salako, Sylvain Santoni, Leila Zekraoui, Muriel Latreille, Christine Tollon-Cordet, Cédric Mariac, Estelle Jaligot, Thierry Beulé, et Kifouli Adéoti. 2020. « Transferability, development of simple sequence repeat (SSR) markers and application to the analysis of genetic diversity and population structure of the African fan palm (Borassus

aethiopum Mart.) in Benin ». *BMC Genetics* 21 (1): 145. https://doi.org/10.1186/s12863-020-00955-y.

Li, Heng. 2011. « A Statistical Framework for SNP Calling, Mutation Discovery, Association Mapping and Population Genetical Parameter Estimation from Sequencing Data ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 27 (21): 2987-93. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr509.

Li, Heng, et Richard Durbin. 2009. « Fast and Accurate Short Read Alignment with Burrows-Wheeler Transform ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 25 (14): 1754-60. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324.

Martin, Marcel. 2011. « Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads ». *EMBnet.Journal* 17 (1): 10-12. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200.

McKenna, Aaron, Matthew Hanna, Eric Banks, Andrey Sivachenko, Kristian Cibulskis, Andrew Kernytsky, Kiran Garimella, et al. 2010. « The Genome Analysis Toolkit: A MapReduce Framework for Analyzing next-Generation DNA Sequencing Data ». *Genome Research* 20 (9): 1297-1303. https://doi.org/10.1101/gr.107524.110.

Meirmans, Patrick G. 2012. « AMOVA-Based Clustering of Population Genetic Data ». *Journal of Heredity* 103 (5): 744-50. https://doi.org/10.1093/jhered/ess047.

Mogue Kamga, Suzanne, Grischa Brokamp, Ariane Cosiaux, Abdon Awono, Susanne Fürniss, Anders S. Barfod, Fogoh John Muafor, Philippe Le Gall, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2020. « Use and Cultural Significance of Raphia Palms ». *Economic Botany* 74 (2): 207-25. https://doi.org/10.1007/s12231-020-09487-z.

Mogue Kamga, Suzanne, Bonaventure Sonké, et Thomas L.P. Couvreur. 2019. « Raphia vinifera (Arecaceae; Calamoideae): Misidentified for far too long ». *Biodiversity Data Journal* 7 (août): e37757. https://doi.org/10.3897/BDJ.7.e37757.

Ndjiondjop, Marie-Noelle, Kassa Semagn, Arnaud C. Gouda, Sèdjro B. Kpeki, Daniel Dro Tia, Mounirou Sow, Alphonse Goungoulou, et al. 2017. « Genetic Variation and Population Structure of Oryza Glaberrima and Development of a Mini-Core Collection Using DArTseq ». *Frontiers in Plant Science* 8: 1748. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01748.

Olawuyi, Odunayo Joseph, et Abeeb Abiodun Azeez. 2019. « Molecular Evaluation of Garcinia Kola Heckel Accessions Using RAPD Markers ». *American Journal of Molecular Biology* 9 (2): 41-51. https://doi.org/10.4236/ajmb.2019.92004.

Perrier X et Jacquemoud-Collet JP. 2006. « DARwin software. http://darwin.cirad.fr/darwin ».

Pipatchartlearnwong, Kwanjai, Akarapong Swatdipong, Supachai Vuttipongchaikij, et Somsak Apisitwanich. 2017. « Genetic Evidence of Multiple Invasions and a Small Number of Founders of Asian Palmyra Palm (Borassus Flabellifer) in Thailand ». *BMC Genetics* 18 (1). https://doi.org/10.1186/s12863-017-0554-y.

Prunier, Jérôme. 2012. « Echantillonnage individu-centré en génétique du paysage : étude de l'impact de la fragmentation d'origine anthropique sur la dispersion du triton alpestre Ichthyosaura alpestris ». Phdthesis, Université Claude Bernard - Lyon I. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00942287.

Rohland, Nadin et David Reich. 2012. « Cost-Effective, High-Throughput DNA Sequencing Libraries for Multiplexed Target Capture ». *Genome Research* 22 (5): 939-46. https://doi.org/10.1101/gr.128124.111.

Sayyari, Erfan, James B Whitfield et Siavash Mirarab. 2017. « Fragmentary Gene Sequences Negatively Impact Gene Tree and Species Tree Reconstruction ». *Molecular Biology and Evolution* 34 (12): 3279-91. https://doi.org/10.1093/molbev/msx261.

Stamatakis, Alexandros. 2014. « RAxML Version 8: A Tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 30 (9): 1312-13. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033.

Stauffer, F.W, D. Ouattara et A.L. Stork. 2014. « Palmae (Arecaceae). In: Tropical African Flowering Plants: Monocotyledons ». *Genève: Conservatoire et Jardin Botanique Ville de Genève* (Vol. 8), eds. Lebrun: 326-54.

Szczecińska, Monika, Gabor Sramko, Katarzyna Wołosz, et Jakub Sawicki. 2016. « Genetic Diversity and Population Structure of the Rare and Endangered Plant Species Pulsatilla patens (L.) Mill in East Central Europe ». *PLOS ONE* 11 (3): e0151730. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151730.

Tranchant-Dubreuil, Christine, Sébastien Ravel, Cécile Monat, Gautier Sarah, Abdoulaye Diallo, Laura Helou, Alexis Dereeper, Ndomassi Tando, Julie Orjuela-Bouniol, et François Sabot. 2018. « TOGGLe, a Flexible Framework for Easily Building Complex Workflows and Performing Robust Large-Scale NGS Analyses ». Preprint. Bioinformatics. https://doi.org/10.1101/245480.

Wright, S. 1978. « Évolution et génétique des populations. » In. Vol. Vol. 4.

Xiao, Long-Qian et Xun Gong. 2006. « Genetic Differentiation and Relationships of Populations in the Cycas Balansae Complex (Cycadaceae) and Its Conservation Implications ». *Annals of Botany* 97 (5): 807-12. https://doi.org/10.1093/aob/mcl039.

# DISCUSSION GENERALE

Dans la partie introductive de cette thèse, nous avons défini un certain nombre d'objectifs spécifiques à atteindre pour chaque chapitre. Dans cette partie, nous allons évaluer l'atteinte des objectifs et discuter nos résultats dans un contexte général. Puis nous suggérerons des investigations futures qui pourront compléter le travail décrit ici.

Dans le premier chapitre, nous avions pour objectif de déterminer la diversité et la structuration génétique de *B. aethiopum* dans 9 populations rencontrées au Bénin. Nous avons fourni ainsi le premier ensemble de données génétiques fiables et exploitables pour l'amélioration de la gestion de cette espèce sur le plan national. Cet objectif est largement atteint, bien que notre tentative de portabilité de marqueurs microsatellites d'espèces sources apparentées au *B. aethiopum* a été infructueuse (22,5 %). Afin d'expliquer ces résultats non-concordants avec des études similaires au sein de la famille et chez d'autres espèces de plantes, nous postulons pour la complexité et la grande taille du génome du *B. aethiopum* (1 C = 7,73 Gb ; Jaume Pellicer, données non publiées). La taille du génome de *B. aethiopum* est beaucoup plus importante que celle de la plupart des espèces sources des SSR utilisés (*P. dactylifera* : 671 Mb, Al-Mssallem et al. 2013; *E. guineensis* : 1,8 à 1,9 Gb, Singh et al. 2013 et Rival et al. 1997 ; *C. nucifera* : 2,42 Gb Xiao et al. 2017). Nous avons proposé également que cette différence de taille significative pourrait être due à une différence de contenu d'élément transposable (TE) comme suggéré par Fan et al. (2013). Cependant, grâce aux techniques NGS qui sont devenues plus accessibles et moins coûteuses à mettre en place, nous avons développé en absence de données génétiques des marqueurs microsatellites polymorphes (11 SSR) spécifiques à *B. aethiopum*. Ces marqueurs microsatellites ainsi développés après un séquençage partiel du génome de *B. aethiopum* ont été utilisés pour élucider sa diversité et sa structuration génétique au Bénin. Au plan national, nos résultats rapportent une faible diversité génétique en général pour *B.*

*aethiopum*. Cependant la région du Centre Bénin plus précisément les populations rencontrées à Savè présentaient particulièrement une diversité génétique (He = 0,451) plus importante que les autres régions. Ce phénomène s'explique en partie par le fait que cette localité est la plus grande zone de production de l'hypocotyle de rônier du pays et la population de *B. aethiopum* qu'on y rencontre pourrait être la plus grande du Bénin. Les résultats ont révélé l'existence de deux groupes génétiques, l'un regroupant les populations du Sud et du Centre et l'autre celles du Nord. Ces deux groupes génétiques semblent refléter les régions géoclimatiques rencontrées au Bénin et semblent également tenir compte des distances géographiques entre les sites de collecte exception faite à la localité de Savè qui se regroupe avec celles du Nord Bénin. Nous proposons que la proximité génétique du site de Savè avec les sites du Nord, principalement du Nord-Ouest du Bénin pourrait s'expliquer par les mouvements de dispersion des graines de *B. aethiopum* connus. En effet, d'après la littérature les graines de *B. aethiopum* sont distribuées par les gros mammifères comme l'éléphant et l'homme. Ceci pourrait expliquer la proximité génétique des individus collectés à Savè avec ceux du Nord Bénin, car jusqu'en 1982 la présence des troupeaux d'éléphants a été signalée dans la forêt de Wari-Maro et du mont kouffé qui sont connecter et dont les superficies atteignent les frontières de la localité de Savè (Roth et Douglas-Hamilton 1991). De plus, les ethnies rencontrées dans ces localités du Nord Bénin et de Savè partagent des liens culturels forts ce qui favorise de fréquents échanges entre ces populations qui exploitent fortement les produits issus du palmier rônier (Affouda, 2018). La dispersion des pollens chez *B. aethiopum* pourrait avoir jouer un rôle dans l'importante variabilité génétique obeservée en intra-site plutôt qu'entre les sites. Malheuresement le mode de dispersion des pollens chez *B. aethiopum* n'a pas encore fait l'objet d'étude spécifique pour identifier l'impact de ce dernier sur le flux génétique, cependant, certains auteurs attribuent la dispersion des pollens de l'espèce au chauve-souris. Cependant, la

distance parcourue par le pollen est déterminant pour les croisements entre populations (Willemin, Cabannes et Chantry, 1987 ; Rsmussen et al. 1992). A tout cela s'ajoute le fait que la localité de Savè est isolée des autres localités du Centre Bénin échantillonnées par une barrière physique (le fleuve Ouémé) qui prend sa source depuis le Nord-Ouest du pays (Moniod 1973). Toutes ces observations à partir de nos résultats soutiennent notre hypothèse H1 selon laquelle : le niveau de diversité et de structuration génétique des populations de *Borassus* aethiopum au plan national (Bénin) reflète l'impact anthropique et l'importance de la dispersion des pollens sur le niveau de diversité des espèces végétales. A travers cette étude, nous avons fourni le premier ensemble de données génétiques exploitables pour d'autres études de diversité génétique sur cette espèce et potentiellement d'autres espèces du même genre. Notamment les autres espèces du genre *Borassus* comme *B. akeassii* sur laquelle aucune donnée génétique n'est disponible. Nous avons également fourni d'importantes données pouvant être exploitées pour mieux encadrer l'exploitation de *B. aethiopum* Au Bénin. Les techniques de séquençage de nouvelle génération à travers notre étude se sont avérées très efficaces pour développer rapidement et à moindre coût des données génétiques fiables et exploitables pour des études génétiques sur des espèces peu documentées.

La reconstruction phylogénétique du genre *Borassus* (Chapitre 2) a été un succès en produisant une phylogénie datée du genre *Borassus* entièrement résolue et essentiellement bien étayée. Cette phylogénie datée a permis de vérifier et de confirmer notre hypothèse H2 qui propose une origine vers la fin de l'Oligocène et une diversification au cours du Miocène pour les espèces du genre *Borassus*. Les résultats de cette étude (chapitre 2) étaient en grande partie conformes aux études similaires publiées, bien que l'échantillonnage des taxons ait été moins important au sein de la tribu des *Borasseae* que dans les études précédentes (Bayton 2005; Bellot et al. 2020).

Cependant, nos deux grands domaines d'intérêt entre autres pour cette étude étaient la détermination de l'âge de spéciation de *B. aethiopum* et l'identification de son espèce sœur sont entièrement satisfaits. Dans l'ensemble les nœuds de notre arbre phylogénétique daté réalisé étaient très bien soutenus par des valeurs de probabilité postérieure locale fortes. La tribu des *Borasseae* semble monophylétique d'après nos résultats et au sein de la sous-tribu des *Lataniinae*, la position des genres *Lodoicea*, *Latania* et *Hyphaene* semble conforme aux résultats des travaux de Bellot et al. (2020) et Bayton (2005). Conformément aux travaux précédents, nous avons identifié le genre *Borassodendron* comme sœur du genre *Borassus*. Les relations taxonomiques obtenues au sein du genre *Borassus* concordent dans l'ensemble des deux topologies aux précédents résultats (Bayton, 2005 ; Bellot et al. 2020). Cependant, notre phylogénie datée a apporté bien plus d'éclaircissement et de précision par rapport au sens de migration au sein du genre *Borassus* entre Madagascar et l'Afrique continentale. Une question qui était restée à ce jour sans réponse claire à cause des résultats quelque peu non concordants obtenus pour les deux études de phylogénie ayant pris en compte ce genre de palmier (Bayton 2005; Bellot et al. 2020). Nos résultats ont permis d'identifier l'origine du genre *Borassus* en Asie et *Borassus heineanus* comme la première espèce de ce genre ayant divergé il y a environ 16,21 Ma. La migration des espèces du genre *Borassus* est allée de l'Asie vers l'Afrique d'après notre arbre phylogénétique daté. L'âge des différents phénomènes de spéciation à l'origine des différentes espèces de ce genre semble coïncider avec les périodes d'aridification du climat passé ayant favorisé l'expansion des espèces de savanes sur la terre. *B. aethiopum* semble être la plus jeune espèce de ce genre ayant divergé il y a 3,05 Ma de *B. madagascariensis*. Nos travaux ont permis de confirmer la présence de *B. akeassii* au Sénégal. Une information qui vient soutenir les observations faites par Bayton et Ouedraogo, (2009) à partir de critères morphologiques et soulève en même temps la question relative à la présence effective ou non

de *B. aethiopum* au Sénégal. En général, la distribution des espèces du genre *Borassus* semble avoir été sous l'influence des changements climatiques passés sur les savanes. L'utilisation de marqueurs nucléaires obtenus par capture de gènes ciblés s'est avérée efficace pour élucider les relations phylogénétiques au sein du genre *Borassus*. Cette observation vient confirmer l'efficacité d'utilisation des marqueurs nucléaires spécifiques au palmier pour résoudre les relations phylogénétiques rapportées par plusieurs auteurs (Escobar et al. 2019; 2021b; Helmstetter, et al. 2020a; Helmstetter, et al. 2020b). Cette observation est identique dans les études de phylogénie chez d'autres familles de plantes comme les Annonaceae (Couvreur et al. 2019 ; Dagalier et al. 2020). L'utilisation des données fossiles pour calibrer les arbres phylogénétiques reste un atout important malgré le fait que cette méthode est quelque peu controversée dans la littérature.

Au niveau intraspécifique (Chapitre 3) chez *B. aethiopum*, les temps de divergence des lignées génétiques ont été estimés dans le but de vérifier l'hypothèse selon laquelle leur distribution serait en lien avec les différentes périodes d'aridification du climat qui ont favorisé l'expansion des savanes d'Afrique de l'Ouest et du Centre. Nous avons à cet effet identifié 3 groupes génétiques chez *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre. La faible valeur de l'indice de différenciation génétique et la forte admixture observée, indiquaient clairement une connexion historique entre les trois groupes génétiques d'Afrique de l'Ouest et du Centre. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans d'autres études regardant la structuration génétique d'espèces de savanes dans cette zone géographique (Lompo et al. 2018; Lyam et al. 2018; Donkpegan et al. 2019a). Au niveau des populations de *B. aethiopum* échantillonnées au Bénin, nos résultats sont également similaires à ceux obtenus pour l'analyse de structuration génétique réalisée dans le chapitre 1 avec des marqueurs microsatellites (Kpatènon et al. 2020).

L'arbre phylogéographique daté réalisée à partir d'individus représentatifs de chaque lignée génétique a été calibré avec l'âge de spéciation (3,05 Ma) et l'espèce sœur (*B. madagascariensis*) de *B. aethiopum* obtenu dans le chapitre 2. Le premier groupe génétique qui regroupe les individus des sites du Burkina Faso, de la Côte d'Ivoire, du Nord du Bénin et du Centre du Bénin (Savè) semblait être le groupe génétique qui s'est étendu vers le Dahomey Gap et vers l'Afrique Centrale. Les lignées génétiques 2 (Sud et Centre Bénin, Sud et Centre Togo) et 3 (Cameroun) se sont installées parallèlement à partir de l'expansion des populations de la lignée génétique 1 (Burkina Faso, du Nord Bénin et de la Côte d'Ivoire) il y a 0,92 Ma. Ces résultats concordent bien avec les périodes d'aridification du climat ayant favorisé l'expansion des savanes de cette zone rapportée par plusieurs auteurs (Edwards et al. 2010; 2016). Nos résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle la distribution des lignées génétiques de *B. aethiopum* a suivi l'expansion des savanes sous l'influence des changements climatiques passés spécialement les périodes arides du climat. L'utilisation des marqueurs nucléaires spécifiques au palmier couplé à la datation moléculaire utilisant des données fossiles pour l'étalonnage s'est avérée très efficace pour élucider l'histoire évolutive de *B. aethiopum* comme c'est le cas dans d'autres études similaires (Heyduk et al. 2016; Loiseau et al. 2019; Helmstetter et al. 2020; Escobar et al. 2021). Les travaux que nous avons présentés dans ce chapitre sont la toute première étude du genre qui permet de comprendre l'état actuel de la distribution de *B. aethiopum* dans les savanes de cette zone. Nos résultats constituent également une bonne base de données pouvant être utilisée pour des études futures avec plus de données et couvrant toute l'aire de distribution de *B. aethiopum*. Ces résultats permettront de développer des stratégies de conservation regardant *B. aethiopum* dans toute son aire de distribution.

La structuration génétique de *R. vinifera* (Chapitre 4) dans quelques localités de l'Ouest du Cameroun a été réalisée dans le but de réfuter ou non, l'hypothèse selon laquelle les populations de *R. vinifera* rencontrées dans l'Ouest du Cameroun seraient des peuplements reconstitués sous l'influence de l'action anthropique. A cet effet, les résultats de nos analyses ont révélé une faible différenciation génétique (Fst < 0,05) entre les populations des différentes localités collectées pour cette étude. Nous avons observé également une absence de structuration génétique accompagnée d'une absence de regroupement géographique malgré les nombreuses barrières géographiques et physiques présentes sur l'aire de distribution de cette espèce au Cameroun. En effet, *R. vinifera* se retrouve sur les hauts plateaux dans les champs et dans la vallée des montagnes qu'on retrouve dans l'Ouest du Cameroun principalement dans la lignée volcanique du Cameroun (LVC). Ces résultats bien que contraires à plusieurs études de ce genre sur d'autres espèces de palmiers, s'accordent cependant avec des études de structuration génétique sur des espèces menacées ou fortement cultivées comme *Cycad balansae, Garcinia kola* ou *Oryza glaberrima* (Xiao et Gong 2006; Huang et al. 2012; Branch et al. 2017; Ndjiondjop et al. 2017; Olawuyi et Azeez 2019). Nous savons qu'au Cameroun, le palmier bambou (*R. vinifera*), du fait qu'il est indispensable au besoin des populations locales, a été très tôt cultivé dans notre zone d'étude. Les raisons de cette mise en culture de l'espèce sont nombreuses mais nous pouvons citer entre autres la consommation de la sève comme vin de palme indispensable aucours des fêtes traditionnelles. L'utilisation du pétiole comme bambou pour la fabrication d'objet de tout genre destiné à la vente et surtout dans la construction des maisons des notables (Cosiaux et Couvreur 2020). D'après Cosiaux et Couvreur (2020) et Mogue Kamga et al (2020), afin de satisfaire ces besoins des populations locales, on observe la commercialisation des plantules de *R. vinifera* choisis en fonction de certaines qualités (qualité de sève produite, qualité du bambou, etc.). Cette commercialisation des plantules dans les

marchés est remarquable à l'approche des saisons favorables à la culture de cette ressource vitale aux populations locales (Mogue Kamga et al. 2020 ; Cosiaux et Couvreur 2020). Ces mêmes auteurs rapportent une exploitation encadrée des populations de *R. vinifera* par les chefs traditionnels dans l'Ouest du Cameroun afin d'assurer une disponibilité permanente et d'éviter ainsi les conflits entre chefferie traditionnelle ou exploitants. Toutes ces observations en rapport avec l'impact anthropique sur cette espèce concourent à confirmer nos résultats et suggèrent que l'absence de structuration observée serait due à un transfert de matériel génétique assuré par l'homme et cela indépendamment des barrières géographiques et physiques existantes. De plus nous savons que *R. vinifera* est un palmier monoïque qui se reproduit par drageons, ceci ajouté aux barrières géographiques (zone montagnarde) devraient favoriser une structuration géographique chez *R. vinifera*. Au bout de ces travaux et au regard de nos résultats dans ce chapitre nous proposons que ces peuplements de *R. vinifera* ont été façonnés par l'homme pour ses besoins. Cependant le caractère préliminaire de cette étude et la faible quantité d'échantillons ne permettent pas d'aller plus loin dans nos analyses. Malgré cela, nos résultats constituent une bonne base pour des études futures sur la diversité et la structuration génétique de cette espèce dans toute sa zone de distribution en Afrique de l'Ouest et du Centre.

Nos travaux révèlent dans l'ensemble que l'utilisation des techniques de capture de gène ciblé couplé au séquençage de nouvelle génération (NGS) constitue une bonne méthode pour disposer rapidement des données de qualité pouvant être utilisées dans différentes études en phylogénie, phylogéographie et génétique pour des espèces peu étudiées.

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats de cette thèse montrent l'avantage d'utiliser les nouvelles techniques de séquençage pour disposer de données fiables permettant de mieux comprendre la dynamique évolutive des espèces végétales au regard des changements climatiques passés. La datation moléculaire des arbres phylogénétiques nous a permis d'avoir une bonne compréhension de la dynamique spatio-temporelle des relations phylogénétiques au niveau inter et intra spécifiques. Peu d'études ont abordé l'évolution de la distribution des espèces de savanes en Afrique. Principalement, sur les palmiers de savanes, on note une lacune importante sur la compréhension de l'évolution de ces espèces à la lumière des changements climatiques passés. La présente étude a apporté des éléments pour la compréhension de la dynamique évolutive des espèces du genre *Borassus* en général et de *B. aethiopum* en particulier en Afrique de l'Ouest et du Centre. Ce travail constitue la première étude génétique et génomique sur *Borassus aethiopum* pour la construction de son histoire évolutive en rapport avec les changements climatiques passés. Dans un deuxième volet de cette thèse, nous avons évalué l'impact anthropique dû à une exploitation excessive du palmier *Raphia vinifera* dans l'Ouest du Cameroun.

Dans le premier chapitre de cette thèse, nos résultats fournissent la première source moléculaire importante de données génétiques sur le palmier de savane *Borassus aethiopum*. Ces données générées restent disponibles pour toute la communauté scientifique et contribueront sans doute à de futures études sur cette espèce de palmier ou d'autres espèces du même genre. Nous proposons dans ce premier chapitre qu'en cas de tentative de portabilité des marqueurs microsatellites non-fructueux (22,5 %), un séquençage haut débit partiel, rapide et non coûteux pourrait permettre de disposer d'importantes données pour des études génétiques. En particulier sur les espèces peu étudiées et avec un génome de grande taille (C = 7,9 Gb) et complexe comme chez *B. aethiopum*. Nos résultats ont permis de fournir un ensemble de marqueurs

microsatellites polymorphes spécifiques (11 SSRs) au *B. aethiopum* et pouvant être utilisé pour des analyses futures sur l'espèce ou d'autres espèces de ce genre. Nos résultats permettent sur un plan national (Bénin) de révéler que le flux de gènes chez *B. aethiopum* est plus important au sein d'un même site qu'entre les sites. Cependant, chez *B. aethiopum* au Bénin nos résultats indiquent également que les migrations d'animaux et les déplacements humains favorisent le transfert de gènes sur de longues distances chez *B. aethiopum*. Ces résultats permettent de révéler une importante interaction entre *B. aethiopum* et son environnement compte tenu de son importance en tant que produit forestier non-ligneux. Ces résultats ont permis d'identifier les pools génétiques de *B. aethiopum* au Bénin. Ces données fournies peuvent contribuer à l'élaboration des stratégies efficaces de protection et de conservation de *B. aethiopum* au Bénin.

Chez le genre *Borassus*, la disponibilité des marqueurs nucléaires spécifiques aux palmiers, nous a permis de présenter dans le chapitre 2 la première étude phylogénomique utilisant ce type de marqueurs au sein de ce genre. Grâce à la disponibilité de nouvelles données fossiles, nous avons également estimé les temps de divergence des espèces du genre *Borassus* afin de comprendre le rôle joué par les changements climatiques passés sur la diversification des palmiers *Borassus*. Nos résultats nous ont permis de confirmer une origine asiatique au genre *Borassus* qui remonte à la fin de l'Oligocène (24,4 Ma) avec une diversification au cours du Miocène (23 - 5,3 Ma). Nos résultats ont permis également d'identifier *B. heineanus* comme la plus ancienne espèce de ce genre qui a divergé du genre *Borassodendron* il y a 16,21 Ma et *B. akeassii* comme la première espèce africaine de ce genre. Nos résultats ont situé deux évènements de migration entre l'Afrique continentale et Madagascar qui ont donné dans l'ordre *B. madagascariensis* puis *B. aethiopum* et qu'on peut situer respectivement autour de 5,66 Ma et 3,05 Ma. Nos travaux confirment *B. madagascariensis* comme espèce sœur de *B. aethiopum* et clarifient ainsi le sens de migration entre l'Afrique et le Madagascar pour ce genre de palmier.

Nos résultats apportent aussi l'affirmation sur une base moléculaire de la présence de *B. akeassii* au Sénégal et constitue de vaste peuplement dans plusieurs localités du Sénégal.

Les résultats d'analyse sur la dynamique évolutive des lignées génétiques de *B. aethiopum* (chapitre 3) ont permis d'identifier 3 pools génétiques de *B. aethiopum* en Afrique de l'Ouest et du Centre. La répartition de ces groupes génétiques en Afrique de l'Ouest et du Centre s'est déroulée au cours du Pléistocène et a été favorisée principalement par l'expansion des savanes au cours des périodes arides du climat dans cette zone d'étude. L'âge de formation des groupes génétiques identifiés (1,38 et 0,92 Ma) correspond à des phases arides du climat au cours du Pléistocène. Les populations de *B. aethiopum* ont évolué longitudinalement du Sahel (Burkina Faso ; Nord Bénin et Nord Côte d'Ivoire) vers le Sud en suivant le couloir sec dahoméen (Dahomey Gap) en Afrique de l'Ouest (Bénin ; Togo). En parallèle, les populations de *B. aethiopum* du Sahel ont également évolué vers l'Afrique Centrale (Cameroun) et ces deux migrations simultanées peuvent être situées autour de 0,92 Ma. Nos résultats suggèrent que le schéma de distribution des lignées génétiques de *B. aethiopum* a été façonné au cours du Pléistocène sous le contrôle des fluctuations climatiques notamment les périodes arides du climat.

En ce qui concerne le palmier *Raphia vinifera*, nos résultats suggèrent une exploitation excessive par les populations locales des régions de l'Ouest du Cameroun compte tenu de l'importance de cette espèce pour ces dernières. Cette exploitation excessive des ressources du palmier bambou a considérablement affecté la structuration génétique des populations de *R. vinifera* rencontrées dans l'Ouest du Cameroun. Nos résultats révèlent une menace en rapport avec la disponibilité de populations naturelles de *R. vinifera* dans l'Ouest du Cameroun. Les données présentées ici pourront contribuer à l'élaboration d'une politique efficace de préservation et d'exploitation rationnelle de cette espèce de palmier au Cameroun.

L'ensemble des résultats de ces travaux de thèse présentés ici constitue une première sur ces espèces de savanes et fournit d'importantes données génétiques et génomiques qui constituent une base importante pour de nouvelles recherches sur ces 2 espèces de palmiers. Cependant, certains aspects de nos travaux méritent d'être approfondis car l'échantillonnage dans les deux cas ne prend en compte qu'une partie de l'aire de distribution de ces espèces. Par exemple, il est néccessaire :

- d'étendre l'analyse de la diversité génétique de *B. aethiopum* à toute sa zone de distribution afin de disposer d'une connaissance globale sur cette espèce de palmier. Une telle étude pourrait révéler de nouveaux pools génétiques chez *B. aethiopum* en Afrique.
- de reconstruire l'histoire évolutive complète des populations de *B. aethiopum* en tenant compte des nouvelles données fossiles disponibles et un échantillonnage sur toute sa zone de distribution. Ceci compléterait nos résultats et apportera plus de connaissance sur le mécanisme de distribution de cette espèce pour une gestion durable de cette ressource génétique.
- de réaliser une étude complète de diversité et structuration génétique chez *R. vinifera* avec un échantillonnage représentatif de toute sa zone de distribution. Ceci permettra d'évaluer de façon plus efficace l'impact anthropique sur cette espèce de palmier et d'encadrer son exploitation.

# RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Les références de l'introduction et de la discussion générale sont regroupées ici.

Ade, Ajisafe. 2016. « ScienceDirect Palynology: A useful tool in understanding palaeoclimatic changes through the Pliocene-Pleistocene from the deep offshore Niger Delta, Nigeria ». https://www.academia.edu/27616093/ScienceDirect_Palynology_A_useful_tool_in_understanding_palaeoclimatic_changes_through_the_Pliocene_Pleistocene_from_the_deep_offshore_Niger_Delta_Nigeria.

Adomou, A. 2005. « Vegetation Patterns and Environmental Gradients in Benin ». Phd, Wageningen. https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/342970.

Ahossou, Oscar D., Kasso Daïnou, Steven B. Janssens, Ludwig Triest, et Olivier J. Hardy. 2020. « Species Delimitation and Phylogeography of African Tree Populations of the Genus Parkia (Fabaceae) ». *Tree Genetics & Genomes* 16 (5): 68. https://doi.org/10.1007/s11295-020-01463-x.

AKOEGNINOU, A. 1984. « Contribution à l'étude botanique des ilôts de forêt dense humide semi-décidue en République Populaire du Bénin. » Thèse 3ème cycle Univ. Bordeaux III.

AKOEGNINOU, A. 1998. « Les forêts denses humides semi-décidues du Sud-Bénin ». *J. Rech. Sci. 2(1): 125-131.*, 1998.

Al-Mssallem, Ibrahim S., Songnian Hu, Xiaowei Zhang, Qiang Lin, Wanfei Liu, Jun Tan, Xiaoguang Yu, et al. 2013. « Genome Sequence of the Date Palm Phoenix Dactylifera L ». *Nature Communications* 4 (1): 2274. https://doi.org/10.1038/ncomms3274.

Alsos, Inger Greve, Sebastien Lavergne, Marie Kristine Føreid Merkel, Marti Boleda, Youri Lammers, Adriana Alberti, Charles Pouchon, et al. 2020. « The Treasure Vault Can be Opened: Large-Scale Genome Skimming Works Well Using Herbarium and Silica Gel Dried Material ». *Plants* 9 (4): 432. https://doi.org/10.3390/plants9040432.

Ambe, G.A. 2001. « Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire: état de la connaissance par une population locale, les Malinké ». *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 5 (janvier).

Andermann, Tobias, Ángela Cano, Alexander Zizka, Christine Bacon, et Alexandre Antonelli. 2018. « SECAPR—a Bioinformatics Pipeline for the Rapid and User-Friendly Processing of Targeted Enriched Illumina Sequences, from Raw Reads to Alignments ». *PeerJ* 6 (juillet): e5175. https://doi.org/10.7717/peerj.5175.

Aranzana, M.J, J García-Mas, J Carbó, et P Arús. 2002. « Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. Plant Breed », 121:-87-92.

Arbonner, Michel. 2002. *Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest*.

Artigas, Rafael Cámara. 2009. « Concepts, approche bioclimatique et typologie des savanes.Application aux savanes américaines ». *Cahiers d'Outre-Mer* 62 (62): 175-218. https://doi.org/10.4000/com.5567.

Assi Kaudjhis, Chimène Cloche M., Bruno Zéli Digbehi, Emile Roche, et Anne-Marie Lezine. 2010. « Synthèse sur l'évolution des paléoenvironnements de l'Afrique occidentale atlantique depuis la fin de la dernière période glaciaire. Influences climatiques et anthropiques. » *Revue Internationale de Géologie, de Géographie et d'Ecologie Tropicales* 34 (décembre). https://orbi.uliege.be/handle/2268/91037.

Atyi, Richard Eba'a, Guillaume Lescuyer, Jonas Ngouhouo Poufoun, et Thérèse Moulendè Fouda. 2013. « Étude de l'importance économique et sociale du secteur forestier et faunique au Cameroun », 315.

Baker, William J., et John Dransfield. 2016. « Beyond Genera Palmarum: Progress and Prospects in Palm Systematics ». *Botanical Journal of the Linnean Society* 182 (2): 207-33. https://doi.org/10.1111/boj.12401.

Bakoumé, C., R. Wickneswari, S. Siju, N. Rajanaidu, A. Kushairi, et N. Billotte. 2015. « Genetic Diversity of the World's Largest Oil Palm (Elaeis Guineensis Jacq.) Field Genebank Accessions Using Microsatellite Markers ». *Genetic Resources and Crop Evolution* 62 (3): 349-60. https://doi.org/10.1007/s10722-014-0156-8.

Ballardini, Marco, Antonio Mercuri, Emira Cherif, Sylvain Santoni, Claudio Littardi, Karina Castillo, Frédérique Aberlenc-Bertossi, et Jean-Christophe Pintaud. 2012. « Mise au point de marqueurs moléculaires pour l'étude de la variabilité génétique de Chamaerops humilis L.: résultats preliminaries ». *Le Palmier* Hors-Série n°1: Chamaerops humilis (janvier): 48.

Ballouche, Aziz, Akoegninou Akpovi, Katharina Neumann, Ulrich Salzmann, et Adebisi Sowunmi. 2000. « Le projet "Dahomey Gap" - une contribution à l'histoire de la végétation au Sud-Bénin et Sud-ouest du Nigeria. » *Berichte des Frankfurter Sonderforschungsbereiches 268* 14 (janvier): 237-51.

Bayton, Ross. 2007. « A Revision of Borassus L. (Arecaceae) ». *Kew Bulletin* 62 (janvier): 561-85.

Bayton, Ross P., et Amadé Ouédraogo. 2009. « Discovering Africa's Newest Palm. » *Palms* 53 (1): 37-45.

Bayton, Ross P., Amadé Ouédraogo, et Sita Guinko. 2006. « The genus Borassus (Arecaceae) in West Africa, with a description of a new species from Burkina Faso ». *Botanical Journal of the Linnean Society* 150 (4): 419-27. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2006.00485.x.

Bayton, Ross Patrick. 2005. « BORASSUS L. & THE BORASSOID PALMS: SYSTEMATICS & EVOLUTION », 244.

Bellefontaine, R., A. Gaston, et Y. 1997. « Aménagement des forêts naturelles des zones tropicales sèches ». 1997. https://www.fao.org/3/w4442f/w4442f00.htm#Contents.

Bellot, Sidonie, Ross P. Bayton, Thomas L. P. Couvreur, Steven Dodsworth, Wolf L. Eiserhardt, Maïté S. Guignard, Hugh W. Pritchard, Lucy Roberts, Peter E. Toorop, et William J. Baker. 2020. « On the Origin of Giant Seeds: The Macroevolution of the Double Coconut (Lodoicea Maldivica) and Its Relatives (Borasseae, Arecaceae) ». *The New Phytologist* 228 (3): 1134-48. https://doi.org/10.1111/nph.16750.

Blanc-Pamard, Chantal. 1978. « Contraintes ecologiques et réalites socio-économiques: l'exemple de Tafissou, communauté rurale du contact forêt-savane sur la branche ouest du "V Baoule" Côte d'Ivoire ». *Cahiers ORSTOM: Sciences humaines* 15 (1): 51-79.

Blanc-Pamard, Chantal, et Pierre Peltre. 1987. « Remarques à propos de "Écologie et histoire: les origines de la savane du Bénin" ». *Cahiers d'Études Africaines* 27 (107/108): 419-23.

Bojer, W. 1837. « Hortus Mauritianus : ou enumeration des plantes, exotiques et indigenes, qui croissent a l'Ile Maurice, disposees d'apres la methode naturelle ». Imprimerie d'Aimé Mamarot et Compagnie. https://www.biodiversitylibrary.org/pagethumb/6208526.

Boom, Arthur F., Jérémy Migliore, Esra Kaymak, Pierre Meerts, et Olivier J. Hardy. 2021. « Plastid Introgression and Evolution of African Miombo Woodlands: New Insights from the Plastome-based Phylogeny of *Brachystegia* Trees ». *Journal of Biogeography* 48 (4): 933-46. https://doi.org/10.1111/jbi.14051.

Branch, Carrie L., Joshua P. Jahner, Dovid Y. Kozlovsky, Thomas L. Parchman, et Vladimir V. Pravosudov. 2017. « Absence of Population Structure across Elevational Gradients despite Large Phenotypic Variation in Mountain Chickadees (Poecile Gambeli) ». *Royal Society Open Science* 4 (3): 170057. https://doi.org/10.1098/rsos.170057.

Brée, Baptiste, Andrew J. Helmstetter, Kévin Bethune, Jean-Paul Ghogue, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2020. « Diversification of African Rainforest Restricted Clades: Piptostigmateae and Annickieae (Annonaceae) ». *Diversity* 12 (6): 227. https://doi.org/10.3390/d12060227.

Bretting, P.K., et M.P. Widrlechner. 1995. « Genetic markers and plant genetic resource management. Plant Breeding Reviews », nº 13: 11-86.

Brown, James H. 2014. « Why are there so many species in the tropics? » *Journal of Biogeography* 41 (1): 8-22. https://doi.org/10.1111/jbi.12228.

Burkill, H. M. 1995. « The Useful Plants of West Tropical Africa. Vol 3: Families J-L.. Ed. 2 ». Royal Botanic Gardens. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=The+useful+plants+of+West+Tropical+Afric

a.+Vol+3%3A+Families+JL..+ed.+2&author=Burkill%2C+H.M.+%28Royal+Botanic+Gardens%2C+Kew%2C+Richmond+TW9+3AB+%28United+Kingdom%29%29&publication_year=1995.

Burkill, H.M. 1997. « The useful plants of West Tropical Africa. », 1997, 2 ed. Royal Botanic Gardens, Kew édition.

Charles-Dominique, Tristan, T. Jonathan Davies, Gareth P. Hempson, Bezeng S. Bezeng, Barnabas H. Daru, Ronny M. Kabongo, Olivier Maurin, A. Muthama Muasya, Michelle van der Bank, et William J. Bond. 2016. « Spiny Plants, Mammal Browsers, and the Origin of African Savannas ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (38): E5572-79. https://doi.org/10.1073/pnas.1607493113.

Chevalier, Aug. 1930. « Le Borassus aethiopum de l'Afrique Occidentale et son utilisation. » *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale* 10 (108): 649-55. https://doi.org/10.3406/jatba.1930.4888.

Chevalier, Auguste. 1949. « Répartition géographique et Exploitation des Palmiers Borassus ». *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale* 29 (325): 585-92. https://doi.org/10.3406/jatba.1949.6277.

Cisse, Abdoulaye, Mevanly Ouattara, Estelle Anny N'guessan, et Joël Emmanuel N'Gouan Abrou. 2020. « Diversité végétale et usages des plantes dans une zone de savane soudanienne : Cas de la localité de Ferkessédougou (Nord, Côte d'Ivoire) ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 14 (8): 2807-25. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v14i8.13.

Cosiaux, Ariane, et THOMAS L.P. COUVREUR. 2020. « Palms and People: Raphia Vinifera Usage and Cultivation in the Grassfields of Western » 64: 15.

Couvreur, Thomas L. P., Andrew J. Helmstetter, Erik J. M. Koenen, Kevin Bethune, Rita D. Brandão, Stefan A. Little, Hervé Sauquet, et Roy H. J. Erkens. 2019. « Phylogenomics of the Major Tropical Plant Family Annonaceae Using Targeted Enrichment of Nuclear Genes ». *Frontiers in Plant Science* 9: 1941. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01941.

Couvreur, Thomas L.P., Gilles Dauby, Anne Blach-Overgaard, Vincent Deblauwe, Steven Dessein, Vincent Droissart, Oliver J. Hardy, et al. 2021. « Tectonics, Climate and the Diversification of the Tropical African Terrestrial Flora and Fauna ». *Biological Reviews* 96 (1): 16-51. https://doi.org/10.1111/brv.12644.

D. S. E. Houankoun. 90. « Importance Socio-Economique du Rônier (Borassus aethiopum): Différents Usages et Commercialisation de Quelques Sous-Produits au Bénin," », 2004.

Dagallier, Léo-Paul M. J., Steven B. Janssens, Gilles Dauby, Anne Blach-Overgaard, Barbara A. Mackinder, Vincent Droissart, Jens-Christian Svenning, et al. 2020. « Cradles and Museums of Generic Plant Diversity across Tropical Africa ». *New Phytologist* 225 (5): 2196-2213. https://doi.org/10.1111/nph.16293.

Davies, T. Jonathan, Barnabas H. Daru, Bezeng S. Bezeng, Tristan Charles-Dominique, Gareth P. Hempson, Ronny M. Kabongo, Olivier Maurin, A. Muthama Muasya, Michelle van der Bank, et William J. Bond. 2020. « Savanna Tree Evolutionary Ages Inform the Reconstruction of the Paleoenvironment of Our Hominin Ancestors ». *Scientific Reports* 10 (1): 12430. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69378-0.

Davis, T. A., et Dennis V. Johnson. 1987. « Current Utilization and Further Development of the Palmyra Palm (Borassus Flabellifer L., Arecaceae) in Tamil Nadu State, India ». *Economic Botany* 41 (2): 247-66. https://doi.org/10.1007/BF02858972.

Demenou, Boris. 2018a. « ORIGINE, DIVERSITE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE LA FLORE GUINEO-CONGOLAISE DU DAHOMEY GAP: ORIGIN, DIVERSITY AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE GUINEO-CONGOLIAN FLORA OF THE DAHOMEY GAP », février. http://hdl.handle.net/2013/.

———. 2018b. « ORIGINE, DIVERSITE ET PHYLOGEOGRAPHIE DE LA FLORE GUINEO-CONGOLAISE DU DAHOMEY GAP: ORIGIN, DIVERSITY AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE GUINEO-CONGOLIAN FLORA OF THE DAHOMEY GAP », février. http://hdl.handle.net/2013/.

Demenou, Boris B., Jean-Louis Doucet, et Olivier J. Hardy. 2018. « History of the Fragmentation of the African Rain Forest in the Dahomey Gap: Insight from the Demographic History of Terminalia Superba ». *Heredity* 120 (6): 547-61. https://doi.org/10.1038/s41437-017-0035-0.

Demenou, Boris B., Jérémy Migliore, Myriam Heuertz, Franck K. Monthe, Dario I. Ojeda, Jan J. Wieringa, Gilles Dauby, Laura Albreht, Arthur Boom, et Olivier J. Hardy. 2020. « Plastome Phylogeography in Two African Rain Forest Legume Trees Reveals That Dahomey Gap Populations Originate from the Cameroon Volcanic Line ». *Molecular Phylogenetics and Evolution* 150 (septembre): 106854. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106854.

Demenou, Boris B., Rosalía Piñeiro, et Olivier J. Hardy. 2016. « Origin and History of the Dahomey Gap Separating West and Central African Rain Forests: Insights from the Phylogeography of the Legume Tree Distemonanthus Benthamianus ». *Journal of Biogeography* 43 (5): 1020-31. https://doi.org/10.1111/jbi.12688.

Dijk, Erwin L. van, Hélène Auger, Yan Jaszczyszyn, et Claude Thermes. 2014. « Ten Years of Next-Generation Sequencing Technology ». *Trends in Genetics: TIG* 30 (9): 418-26. https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.001.

Djakalia, OUATTARA, KOUAME Djaha, TIEBRE Marie-Solange, et N'GUESSAN Kouakou Edouard. 2016. « Diversité floristique et usages des plantes dans la zone soudanienne du Nord-ouest de la Côte d'Ivoire ». *Vol.* 31 (1): 16.

Donkpegan, Armel S.L., Rosalía Piñeiro, Myriam Heuertz, Jérôme Duminil, Kasso Daïnou, Jean-Louis Doucet, et Olivier J. Hardy. 2019a. « Population Genomics of the Widespread African Savannah Trees *Afzelia Africana* and *Afzelia Quanzensis* (Caesalpinioideae, Fabaceae) Reveals No Significant Past Fragmentation of Their Distribution Ranges ». Preprint. Plant Biology. https://doi.org/10.1101/730911.

———. 2019b. « Population Genomics of the Widespread African Savannah Trees Afzelia Africana and Afzelia Quanzensis (Caesalpinioideae, Fabaceae) Reveals No Significant Past Fragmentation of Their Distribution Ranges ». Preprint. Plant Biology. http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/730911.

Donou Hounsode, Marcel T., Raoudath Bouraïma, Achille Assogbadjo, Thierry Houehanou, et Romain Lucas Glele Kakaï. 2014. *Evaluation ethnobotanique et socioéconomique de l'exploitation des raphias (Raphia hookeri, R. vinifera et R. sudanica) au Bénin (Afrique de l'Ouest)*.

Dransfield, John, Natalie Uhl, Conny Lange, William Baker, Myles Harley, et C. Lewis. 2008. *Genera Palmarum. The Evolution and Classification of Palms*.

Duminil, Jérôme, Stefano Mona, Patrick Mardulyn, Charles Doumenge, Frédéric Walmacq, Jean-Louis Doucet, et Olivier J. Hardy. 2015. « Late Pleistocene molecular dating of past population fragmentation and demographic changes in African rain forest tree species supports the forest refuge hypothesis ». *Journal of biogeography* 42 (8): 1443-54.

Dupont, L. M., et M. Weinelt. 1996. « Vegetation History of the Savanna Corridor between the Guinean and the Congolian Rain Forest during the Last 150,000 Years ». *Vegetation History and Archaeobotany* 5 (4): 273-92. https://doi.org/10.1007/BF00195296.

Dupont, Lydie M., et C. O. C. Agwu. 1992. « Latitudinal Shifts of Forest and Savanna in N. W. Africa during the Brunhes Chron: Further Marine Palynological Results from Site M 16415 (9°;N 19°W) ». *Vegetation History and Archaeobotany* 1 (3): 163-75. https://doi.org/10.1007/BF00191556.

Dupont, Lydie M., Susanne Jahns, Fabienne Marret, et Shi Ning. 2000. « Vegetation Change in Equatorial West Africa: Time-Slices for the Last 150 Ka ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 155 (1): 95-122. https://doi.org/10.1016/S0031-0182(99)00095-4.

Dupont, Lydie M., Fabienne Marret, et Kyaw Winn. 1998. « Land-sea correlation by means of terrestrial and marine palynomorphs from the equatorial East Atlantic: phasing of SE trade

winds and the oceanic productivity ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 142 (1): 51-84. https://doi.org/10.1016/S0031-0182(97)00146-6.

Edwards, Erika J., Colin P. Osborne, Caroline AE Strömberg, Stephen A. Smith, C 4 GRASSES CONSORTIUM, William J. Bond, Pascal-Antoine Christin, et al. 2010. « The Origins of C4 Grasslands: Integrating Evolutionary and Ecosystem Science ». *Science* 328 (5978): 587-91. https://doi.org/10.1126/science.1177216.

Edwards, Scott V., Sally Potter, C. Jonathan Schmitt, Jason G. Bragg, et Craig Moritz. 2016. « Reticulation, Divergence, and the Phylogeography–Phylogenetics Continuum ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (29): 8025-32. https://doi.org/10.1073/pnas.1601066113.

Escobar, Sebastián, Thomas Couvreur, Rommel Montúfar, et Henrik Balslev. 2019. « The Ivory Palm Phytelephas aequatorialis in Western Ecuador » 63 (mai): 69-79.

Escobar, Sebastián, Andrew J. Helmstetter, Scott Jarvie, Rommel Montúfar, Henrik Balslev, et Thomas L. P. Couvreur. 2021a. « Pleistocene Climatic Fluctuations Promoted Alternative Evolutionary Histories in Phytelephas Aequatorialis, an Endemic Palm from Western Ecuador ». *Journal of Biogeography* n/a (n/a). https://doi.org/10.1111/jbi.14055.

Escobar, Sebastián, Andrew J. Helmstetter, Scott Jarvie, Rommel Montúfar, Henrik Balslev, et Thomas L.P. Couvreur. 2021b. « Pleistocene Climatic Fluctuations Promoted Alternative Evolutionary Histories in Phytelephas Aequatorialis, an Endemic Palm from Western Ecuador ». *Journal of Biogeography* 48 (5): 1023-37. https://doi.org/10.1111/jbi.14055.

Fan, L., M.-Y. Zhang, Q.-Z. Liu, L.-T. Li, Y. Song, L.-F. Wang, S.-L. Zhang, et J. Wu. 2013. « Transferability of Newly Developed Pear SSR Markers to Other Rosaceae Species ». *Plant Molecular Biology Reporter* 31: 1271-82. https://doi.org/10.1007/s11105-013-0586-z.

FAO. 2001. *La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 2001*. Rome: FAO.

Forrest, Laura L., Michelle L. Hart, Mark Hughes, Hannah P. Wilson, Kuo-Fang Chung, Yu-Hsin Tseng, et Catherine A. Kidner. 2019. « The Limits of Hyb-Seq for Herbarium Specimens: Impact of Preservation Techniques ». *Frontiers in Ecology and Evolution* 7. https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fevo.2019.00439.

Frédoux, A. 1994. « Pollen analysis of a deep-sea core in the Gulf of Guinea: vegetation and climatic changes during the last 225,000 years B.P ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, Pollen and Climate, 109 (2): 317-30. https://doi.org/10.1016/0031-0182(94)90182-1.

Garnery L, K FRANC P, BAUDRY E, VAUTRIN D, CORNUET J-M, et SOLIGNAC M. 1998. « Genetic diversity of the west European honey bee (Apis mellifera mellifera and A. m. iberica) II. Microsatellite loci. Genetics Selection Evolution ». Vol. 30, (n°1): .1.

GIFFARD, Pierre Louis. 1967. « LE PALMIER RONIER BORASSUS AETHIOPUM MART. » *Revue bois et foret des tropique*, n° 116: 3-13.

Grenier, C. 2000. « Diversité génétique des sorghos cultivés. Gestion des ressources génétiques et contribution des marqueurs moléculaires à la constitution de Core Collections. Docteur en sciences. Biologie des populations et écologie, Montpellier II, Montpellier, France »,.

Grubisha, Lisa C., Bailey A. Nelson, Nicholas J. Dowie, Steven L. Miller, et Matthew R. Klooster. 2014. « Characterization of Microsatellite Markers for Pinedrops, Pterospora Andromedea (Ericaceae), from Illumina MiSeq Sequencing ». *Applications in Plant Sciences* 2 (11): 1400072. https://doi.org/10.3732/apps.1400072.

Guillaumet, J. L., et Philippe Morat. 1990. « Menace sur la flore ». *Les Cahiers d'Outre-Mer* 43 (172): 343-62. https://doi.org/10.3406/caoum.1990.3353.

Helmstetter, Andrew J., Biowa E. N. Amoussou, Kevin Bethune, Narcisse G. Kamdem, Romain Glèlè Kakaï, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2020. « Phylogenomic Approaches Reveal How Climate Shapes Patterns of Genetic Diversity in an African Rain Forest Tree Species ». *Molecular Ecology* 29 (18): 3560-73. https://doi.org/10.1111/mec.15572.

Helmstetter, Andrew J., Biowa E. N. Amoussou, Kevin Bethune, Narcisse G. Kandem, Romain Glèlè Kakaï, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2019. « Phylogenomic Data Reveal How a Climatic Inversion and Glacial Refugia Shape Patterns of Diversity in an African Rain Forest Tree Species ». *BioRxiv*, octobre, 807727. https://doi.org/10.1101/807727.

Helmstetter, Andrew J., Suzanne Mogue Kamga, Kevin Bethune, Thea Lautenschläger, Alexander Zizka, Christine D. Bacon, Jan J. Wieringa, et al. 2020. « Unraveling the Phylogenomic Relationships of the Most Diverse African Palm Genus Raphia (Calamoideae, Arecaceae) ». *Plants* 9 (4): 549. https://doi.org/10.3390/plants9040549.

Heuertz, Myriam, Jérôme Duminil, Gilles Dauby, Vincent Savolainen, et Olivier J. Hardy. 2014. « Comparative Phylogeography in Rainforest Trees from Lower Guinea, Africa ». *PLOS ONE* 9 (1): e84307. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084307.

Heyduk, Karolina, Dorset W. Trapnell, Craig F. Barrett, et Jim Leebens-Mack. 2016. « Phylogenomic analyses of species relationships in the genus Sabal (Arecaceae) using targeted sequence capture ». *Biological Journal of the Linnean Society* 117 (1): 106-20. https://doi.org/10.1111/bij.12551.

Hiol, François Hiol, et Victor Aimé Kemeuze. 2014. « Les espaces forestiers des savanes et steppes d'Afrique centrale », 19.

Houankoun D. S. E. 2004. « Importance Socio-Economique du Rônier (Borassus aethiopum): Différents Usages et Commercialisation de Quelques Sous-Produits au Bénin », 90.

Huang, Xuehui, Nori Kurata, Xinghua Wei, Zi-Xuan Wang, Ahong Wang, Qiang Zhao, Yan Zhao, et al. 2012. « A Map of Rice Genome Variation Reveals the Origin of Cultivated Rice ». *Nature* 490 (7421): 497-501. https://doi.org/10.1038/nature11532.

Hutley, L. B., et S. A. Setterfield. 2008. « Savanna ». In *Encyclopedia of Ecology, Five-Volume Set*, édité par Sven Erik Jørgensen et Brian D. Fath, 3143-54. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00358-X.

Issa, I, K Wala, M Dourma, W Atakpama, M Kanda, et K Akpagana. 2018. « Valeur ethno-botanique de l'espèce Khaya senegalensis (Desr.) A. Juss (meliaceae) auprès des populations riveraines de la chaîne de l'Atacora au Togo », 9.

J. Sakandé, O. G. Nacoulma. 2004. « Effect of Male Inflorescence of Borassusaethiopum," Médécine d'Afrique Noire » 51 (5): 280-82.

Jacobs, Bonnie F., et Alan L. Deino. 1996. « Test of climate-leaf physiognomy regression models, their application to two Miocene floras from Kenya, and 40Ar/39Ar dating of the Late Miocene Kapturo site ». *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 123 (1): 259-71. https://doi.org/10.1016/0031-0182(96)00102-2.

Jacobs, Bonnie F., John D. Kingston, et Louis L. Jacobs. 1999. « The Origin of Grass-Dominated Ecosystems ». *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86 (2): 590. https://doi.org/10.2307/2666186.

Jacobs, Bonnie F., Aaron D. Pan, et Christopher R. Scotese. 2010a. « A Review of the Cenozoic Vegetation History of Africa ». In *Cenozoic Mammals of Africa*, édité par Lars Werdelin, 57-72. University of California Press. https://doi.org/10.1525/california/9780520257214.003.0005.

———. 2010b. « A Review of the Cenozoic Vegetation History of Africa ». In *Cenozoic Mammals of Africa*, édité par Lars Werdelin, 57-72. University of California Press. http://california.universitypressscholarship.com/view/10.1525/california/9780520257214.001.0001/upso-9780520257214-chapter-5.

Jacobs, Bonnie Fine, et Christine H. S. Kabuye. 1989. « An extinct species of Pollia Thunberg (Commelinaceae) from the Miocene Ngorora Formation, Kenya ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 59 (1): 67-76. https://doi.org/10.1016/0034-6667(89)90007-9.

Jean, Fiasson. 1963. « P. Crété. — Précis de Botanique. — Tome I : Morphologie et reproduction des plantes vasculaires. Systématique des Cryptogames vascuaires et des Gymnospermes. —

Tome II : Systématique des Angiospermes, Paris ». *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon* 32 (8): 245-46.

Johnson, Matthew G, Lisa Pokorny, Steven Dodsworth, Laura R Botigué, Robyn S Cowan, Alison Devault, Wolf L Eiserhardt, et al. 2019. « A Universal Probe Set for Targeted Sequencing of 353 Nuclear Genes from Any Flowering Plant Designed Using k-Medoids Clustering ». *Systematic Biology* 68 (4): 594-606. https://doi.org/10.1093/sysbio/syy086.

Kamga, Suzanne Mogue, Raoul Niangadouma, Fred W. Stauffer, Bonaventure Sonké, et Thomas L.P. Couvreur. 2018. « Two new species of Raphia (Palmae/Arecaceae) from Cameroon and Gabon ». *PhytoKeys*, nº 111 (novembre): 17-30. https://doi.org/10.3897/phytokeys.111.27175.

Kamga, Suzanne Mogue, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2019. « Raphia Vinifera (Arecaceae; Calamoideae): Misidentified for Far Too Long ». *Biodiversity Data Journal* 7 (août): e37757. https://doi.org/10.3897/BDJ.7.e37757.

Kingston, John D., Bonnie Fine Jacobs, Andrew Hill, et Alan Deino. 2002. « Stratigraphy, Age and Environments of the Late Miocene Mpesida Beds, Tugen Hills, Kenya ». *Journal of Human Evolution* 42 (1-2): 95-116. https://doi.org/10.1006/jhev.2001.0503.

Kpatènon, Mariano Joly, Kolawolé Valère Salako, Sylvain Santoni, Leila Zekraoui, Muriel Latreille, Christine Tollon-Cordet, Cédric Mariac, Estelle Jaligot, Thierry Beulé, et Kifouli Adéoti. 2020. « Transferability, development of simple sequence repeat (SSR) markers and application to the analysis of genetic diversity and population structure of the African fan palm (Borassus aethiopum Mart.) in Benin ». *BMC Genetics* 21 (1): 145. https://doi.org/10.1186/s12863-020-00955-y.

L. Price and B. O. Gaoh. 1998. « Local Communities and Management of the Palmyra Plantations of Dallol Naonis and the Niger River: The Example of a Dynamic of Sustainable Development in Niger ».

La Harpe, Marylaure de, Jaqueline Hess, Oriane Loiseau, Nicolas Salamin, Christian Lexer, et Margot Paris. 2019. « A Dedicated Target Capture Approach Reveals Variable Genetic Markers across Micro- and Macro-Evolutionary Time Scales in Palms ». *Molecular Ecology Resources* 19 (1): 221-34. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12945.

« Les régions ethno-climatique de l'Afrique de l'Ouest ». s. d. Consulté le 22 juillet 2022. https://www.peuplesdumonde.voyagesaventures.com/lageographie/géographie-de-l-afrique/afrique-de-l-ouest/item/567-les-régions-ethno-climatique-de-l-afrique-de-l-ouest.html.

Lézine, Anne-Marie. 1989. « Late Quaternary Vegetation and Climate of the Sahel ». *Quaternary Research* 32 (3): 317-34. https://doi.org/10.1016/0033-5894(89)90098-7.

Linder, H. Peter. 2014. « The evolution of African plant diversity ». *Frontiers in Ecology and Evolution* 2: 38. https://doi.org/10.3389/fevo.2014.00038.

Liyi ZHANG. 2006. « Etude de la portabilité de marqueurs microsatellites issus d'EST de blé tendre (T. aestivum) ou de riz ( O.sativa ) vers des espèces apparentées et évaluation de leur intérêt pour la structuration des ressources génétiques chez les graminées ». UNIVERSITE D'AUVERGNE.

Loiseau, Oriane, Ingrid Olivares, Margot Paris, Marylaure de La Harpe, Anna Weigand, Darina Koubínová, Jonathan Rolland, et al. 2019. « Targeted Capture of Hundreds of Nuclear Genes Unravels Phylogenetic Relationships of the Diverse Neotropical Palm Tribe Geonomateae ». *Frontiers in Plant Science* 10: 864. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00864.

Lompo, Djingdia, Barbara Vinceti, Heino Konrad, Hannes Gaisberger, et Thomas Geburek. 2018. « Phylogeography of African Locust Bean (Parkia Biglobosa) Reveals Genetic Divergence and Spatially Structured Populations in West and Central Africa ». *Journal of Heredity*, septembre. https://doi.org/10.1093/jhered/esy047.

Lyam, Paul Terwase, Joaquín Duque-Lazo, Walter Durka, Frank Hauenschild, Jan Schnitzler, Ingo Michalak, Oluwatoyin Temitayo Ogundipe, et Alexandra Nora Muellner-Riehl. 2018. « Genetic Diversity and Distribution of Senegalia Senegal (L.) Britton under Climate Change Scenarios in West Africa ». *PLOS ONE* 13 (4): e0194726. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194726.

Maley, Jean. 1987. « Fragmentation de la forêt dense humide ouest-africaine et extension d'une végétation montagnarde à basse altitude au Quaternaire récent : implications paléoclimatiques et biogéographiques », 6.

———. 2001. « Si La Forêt Tropicale m'était Contée. La Destruction Catastrophique Des Forêts d'Afrique Centrale Survenue Il y a Environ 2500 Ans Exerce Encore Une Influence Majeure Sur La Répartition Actuelle Des Formations Végétales. Canopée », Libreville, , nº n°19: 6-9. https://www.academia.edu/8031434/MALEY_J._2001_-_Si_la_for%C3%AAt_tropicale_m%C3%A9tait_cont%C3%A9e._La_destruction_catastrophique_des_for%C3%AAts_dAfrique_centrale_survenue_il_y_a_environ_2500_ans_exerce_encore_une_influence_majeure_sur_la_r%C3%A9partition_actuelle_des_formations_v%C3%A9g%C3%A9tales._Canop%C3%A9e_Prog._Europ._ECOFAC_Libreville_n_19_6-9.

Mamanova, Lira, Alison J. Coffey, Carol E. Scott, Iwanka Kozarewa, Emily H. Turner, Akash Kumar, Eleanor Howard, Jay Shendure, et Daniel J. Turner. 2010. « Target-Enrichment Strategies for next-Generation Sequencing ». *Nature Methods* 7 (2): 111-18. https://doi.org/10.1038/nmeth.1419.

Maxam, A. M., et W. Gilbert. 1977. « A New Method for Sequencing DNA ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (2): 560-64. https://doi.org/10.1073/pnas.74.2.560.

Michon, Loïc, Adéoti Kifouli, Eben-Ezer Ewédjè, et Fred Stauffer. 2018. « Notes on Borassus aethiopum Mart., a Multi-Purpose Palm in Togo and Benin. » 62 (août): 57-69.

Miller, Charlotte S., et William D. Gosling. 2014. « Quaternary forest associations in lowland tropical West Africa ». *Quaternary Science Reviews* 84 (janvier): 7-25. https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2013.10.027.

Mogue Kamga, Suzanne, Grischa Brokamp, Ariane Cosiaux, Abdon Awono, Susanne Fürniss, Anders S. Barfod, Fogoh John Muafor, Philippe Le Gall, Bonaventure Sonké, et Thomas L. P. Couvreur. 2020. « Use and Cultural Significance of Raphia Palms ». *Economic Botany* 74 (2): 207-25. https://doi.org/10.1007/s12231-020-09487-z.

Moniod, F. 1973. « Régime hydrologique de l'Ouémé (Dahomey) », 13.

Morley, R. J., et K. Richards. 1993. « Gramineae cuticle: a key indicator of Late Cenozoic climatic change in the Niger Delta ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 77 (1): 119-27. https://doi.org/10.1016/0034-6667(93)90060-8.

Morton, J. F. 1988. « Notes on distribution propagation and products of borassus palms arecaceae ». *Economic Botany* 42 (3): 420-41.

Ndjiondjop, Marie-Noelle, Kassa Semagn, Arnaud C. Gouda, Sèdjro B. Kpeki, Daniel Dro Tia, Mounirou Sow, Alphonse Goungoulou, et al. 2017. « Genetic Variation and Population Structure of Oryza Glaberrima and Development of a Mini-Core Collection Using DArTseq ». *Frontiers in Plant Science* 8: 1748. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01748.

Obahiagbon, F. I. 2009. « A Review of the Origin, Morphology, Cultivation, Economic Products, Health and Physiological Implications of Raphia Palm ». *African Journal of Food Science* 3 (13): 447-53. https://doi.org/10.5897/AJFS.9000008.

Ohin, Brice M., Kifouli Adéoti, Sonagnon S. Kouhoundé, Pacôme A. Noumavo, Sabine M. Ogoua, Nansirine Wabi, Marcellin C. Faïnou, Lamine Baba-Moussa, Fatiou Toukourou, et Farid Baba-Moussa. 2018. « Knowledge, Attitudes, and Hygienic Practices of Boiled Hypocotyls ( *Borassus Aethiopum* Mart) Vended in the Streets of Cotonou City and Its Outskirts, Benin ». *BioMed Research International* 2018 (août): 1-9. https://doi.org/10.1155/2018/4825435.

Ohin, Brice M, Kifouli Adeoti, Pacôme A Noumavo, Sonangnon H S Kouhounde, Kamal Garba, Noel S Tovide, Sabine Ogoua, Lamine Baba-Moussa, Fatiou Toukourou, et Farid Baba-Moussa. 2018. « Technological Processes Itinerary and Socio-Economic Impact Assessment of Borassus Aethiopum Hypocotyles "Agonté" Produced in Centre of Benin Republic ». *Food and Public Health*, 7.

Olawuyi, Odunayo Joseph, et Abeeb Abiodun Azeez. 2019. « Molecular Evaluation of Garcinia Kola Heckel Accessions Using RAPD Markers ». *American Journal of Molecular Biology* 9 (2): 41-51. https://doi.org/10.4236/ajmb.2019.92004.

Ouédraogo, Mahama, Alain Maquet, et Jean-Pierre Baudoin. 2005. « Etude comparative de la diversité et de la structure génétique de populations sauvages de Phaseolus lunatus L. à l'aide des marqueurs enzymatiques et microsatellites ». *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement= Biotechnology, Agronomy, Society and Environment [= BASE]* 9 (3): 195-205.

Ouinsavi, Christine, Charlemagne Gbémavo, et Nestor Sokpon. 2011. « Ecological Structure and Fruit Production of African Fan Palm (*Borassus aethiopum*) Populations ». *American Journal of Plant Sciences* 02 (06): 733-43. https://doi.org/10.4236/ajps.2011.26088.

Palisot de Beauvois, Ambrose-Marie-François-Joseph. 1804. *Flore d'Oware et de Benin, en Afrique /*. Paris : Imprimerie de Fain jeune et compagnie. https://doi.org/10.5962/bhl.title.101798.

Pennington, R. Toby, Caroline E. R. Lehmann, et Lucy M. Rowland. 2018. « Tropical Savannas and Dry Forests ». *Current Biology* 28 (9): R541-45. https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.03.014.

Pipatchartlearnwong, Kwanjai, Akarapong Swatdipong, Supachai Vuttipongchaikij, et Somsak Apisitwanich. 2017. « Genetic Evidence of Multiple Invasions and a Small Number of Founders of Asian Palmyra Palm (Borassus Flabellifer) in Thailand ». *BMC Genetics* 18 (1). https://doi.org/10.1186/s12863-017-0554-y.

Plana, Vanessa. 2004. « Mechanisms and tempo of evolution in the African Guineo-Congolian rainforest. » *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359 (1450): 1585-94. https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1535.

« Plastome Phylogeography in Two African Rain Forest Legume Trees Reveals That Dahomey Gap Populations Originate from the Cameroon Volcanic Line ». 2020. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 150 (septembre): 106854. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106854.

Rahman, Shaikh Shahinur, Shubho Nanda Chowdhury, Md. Salauddin, Zubaer Hosen, Md. Rezaul Karim, et Shakh MA. Rouf. 2021. « Comparative Studies on Nutrient Content and Antidiabetic Effects of Sugar Palm (Borassus Flabellifer) Fruit Pulp & Endosperm on Rats ». *Endocrine and Metabolic Science*, octobre, 100113. https://doi.org/10.1016/j.endmts.2021.100113.

Rival, A., T. Beule, P. Barre, S. Hamon, Y. Duval, et M. Noirot. 1997. « Comparative Flow Cytometric Estimation of Nuclear DNA Content in Oil Palm (Elaeis Guineensis Jacq) Tissue Cultures and Seed-Derived Plants ». *Plant Cell Reports* 16 (12): 884-87. https://doi.org/10.1007/s002990050339.

Rohland, Nadin, et David Reich. 2012. « Cost-Effective, High-Throughput DNA Sequencing Libraries for Multiplexed Target Capture ». *Genome Research* 22 (5): 939-46. https://doi.org/10.1101/gr.128124.111.

Roth, H. H., et I. Douglas-Hamilton. 1991. « Distribution and Status of Elephants in West Africa (1) » 55 (4): 489-528. https://doi.org/10.1515/mamm.1991.55.4.489.

Russell, James, Michael R. Talbot, et Brian J. Haskell. 2003. « Mid-holocene climate change in Lake Bosumtwi, Ghana ». *Quaternary Research* 60 (septembre): 133-41. https://doi.org/10.1016/S0033-5894(03)00065-6.

Sabi-Monra S., Adandé A. B. A., et Bagodo O. B. 1994. « Désenclavement, urbanisation et archéologie: pour une meilleure politique de développement du Borgou oriental et la sauvegarde des sites archéo-métallurgiques. In Archéologie et sauveharde du patrimoine. » In *acte du IVe Colloque*, 186-98.

Salard-Cheboldaeff, M. 1981a. « Palynologie maestrichtienne et tertiaire du cameroun. Resultats botaniques ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 32 (4): 401-39. https://doi.org/10.1016/0034-6667(81)90021-X.

———. 1981b. « Palynologie maestrichtienne et tertiaire du cameroun. Resultats botaniques ». *Review of Palaeobotany and Palynology* 32 (4): 401-39. https://doi.org/10.1016/0034-6667(81)90021-X.

Salzmann, Ulrich, et Philipp Hoelzmann. 2005. « Le Dahomey Gap : Une Fragmentation Brutale de La Forêt Pluviale d'origine Climatique En Afrique de l'Ouest à La Fin de l'Holocène ». *The Holocene* 15 (2): 190-99. https://doi.org/10.1191/0959683605hl799rp.

Salzmann, Ulrich, Philipp Hoelzmann, et Irena Morczinek. 2002. « Late Quaternary Climate and Vegetation of the Sudanian Zone of Northeast Nigeria ». *Quaternary Research* 58 (1): 73-83. https://doi.org/10.1006/qres.2002.2356.

Sambou B, Lawesson J.E, et Barfod A.S. 1992. « Borassus aethiopum, a threatened multiple purpose palm in Senegal. Principes . », 36: 148-155.

Sambou, Bienvenu, Assane Goudiaby, Finn Ervik, Daouda Diallo, et Mamadou Ciré Camara. 2002. « Palm Wine Harvesting by the Bassari Threatens Borassus Aethiopum Populations in North-Western Guinea ». *Biodiversity and Conservation* 7 (11): 1149-61. https://doi.org/10.1023/A:1016005025090.

Sanger, F., S. Nicklen, et A. R. Coulson. 1977. « DNA sequencing with chain-terminating inhibitors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (12): 5463-67.

Sankaralingham A., et H. Hameed Khan. 2001. « Palmyrah palms in Tamil Nadu, India. », 2001, Palms 45: édition.

Santoni, Sylvain, Patricia Faivre-Rampant, Emilce Prado, et Daniel Prat. 2000. « Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes ». *Cahiers Agricultures* 9 (4): 311-27.

SCHWARTZ, DOMINIQUE. 1992. « Assèchement climatique vers 3 O00 B.P. et expansion Bantu en Afrique centrale atlantique : quelques réflexions », 1992, Bull. Soc. géol. France, édition, sect. t. 163, no 3,.

Schwarze, Katharina, James Buchanan, Jilles M. Fermont, Helene Dreau, Mark W. Tilley, John M. Taylor, Pavlos Antoniou, et al. 2020. « The Complete Costs of Genome Sequencing: A Microcosting Study in Cancer and Rare Diseases from a Single Center in the United Kingdom ». *Genetics in Medicine* 22 (1): 85-94. https://doi.org/10.1038/s41436-019-0618-7.

Singh, Jitesh Kumar, Arun Kumar Rout, et Kanchan Kumari. 2021. « A Review on Borassus Flabellifer Lignocellulose Fiber Reinforced Polymer Composites ». *Carbohydrate Polymers* 262 (juin): 117929. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117929.

Singh, Rajinder, Meilina Ong-Abdullah, Eng-Ti Leslie Low, Mohamad Arif Abdul Manaf, Rozana Rosli, Rajanaidu Nookiah, Leslie Cheng-Li Ooi, et al. 2013. « Oil Palm Genome Sequence Reveals Divergence of Interfertile Species in Old and New Worlds ». *Nature* 500 (7462): 335-39. https://doi.org/10.1038/nature12309.

Sokpon N, E. Houankoun, C. Ouinsavi and J. Yab. 2004. « Importance Socio-Economique du Rônier (Borassus aethiopum Mart): Différent Usages et Commercialisation de Quelques Sous Produit au Bénin," Communication PrésenTée à L'atelier Scientifique Sud-Centre ».

Stauffer, F.W, D. Ouattara, et A.L. Stork. 2014. « Palmae (Arecaceae). In: Tropical African Flowering Plants: Monocotyledons ». *Genève: Conservatoire et Jardin Botanique Ville de Genève* (Vol. 8), eds. Lebrun: 326-54.

Swenson, Nathan G. 2011. « The Role of Evolutionary Processes in Producing Biodiversity Patterns, and the Interrelationships between Taxonomic, Functional and Phylogenetic Biodiversity ». *American Journal of Botany* 98 (3): 472-80. https://doi.org/10.3732/ajb.1000289.

Talbot, M. R. 1984. « Preliminary results from sediment cores from Lake Bosumtwi, Ghana. » *Palaeoecology of Africa*, 173-92.

Thione, L.A. 2000. « iologie de la reproduction et etude de l'impact de l'exploitation des feuilles et des fruits sur la productivit e des r^oniers. » PhD dissertation, Universit e Cheikh Anta Diop.

Tossou GM. 2002. « Recherche palynologique sur la vegetation Holocene du Sud-Bénin (Afrique de l'Ouest) ». PhD Thesis, Université de Lomé, Togo,136p.

Tuley, P. 1965. « The Production of Raphia Wine in Nigeria ». *Experimental Agriculture* 1 (2): 141-44. https://doi.org/10.1017/S0014479700018718.

Uhl, Natalie W., John Dransfield, et Harold E. Moore. 1987. « Genera Palmarum: A Classification of Palms Based on the Work of Harold E. Moore, Jr ». L.H. Bailey Hortorium and the International Palm Society. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Genera+Palmarum%3A+a+classification+of+palms+based+on+the+work+of+Harold+E.+Moore%2C+Jr&author=Uhl%2C+Natalie+W.&publication_year=1987.

Vienne, Dominique de. 1998. *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales*. Quae.

Wantchécon, A. M. 1983. « Contribution à l'histoire des technologies anciennes du Bas-Bénin. L'exemple du travail du fer à Allada des origines du royaume à la conquete aboméenne en 1724, J.E.R., ». Maitrise en Histoire, UNB., ENS.

Weber, Andreas P. M., Katrin L. Weber, Kevin Carr, Curtis Wilkerson, et John B. Ohlrogge. 2007. « Sampling the Arabidopsis Transcriptome with Massively Parallel Pyrosequencing ». *Plant Physiology* 144 (1): 32-42. https://doi.org/10.1104/pp.107.096677.

White, F. 1983. « The Vegetation of Africa. » *Natural Resources Research, UNESCO* 20. https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19840692540.

White, F. (Frank). 1983. *The Vegetation of Africa: A Descriptive Memoir to Accompany the Unesco/AETFAT/UNSO Vegetation Map of Africa*. Natural Resources Research ; 20. Paris: Unesco.

White, Frank. 1986. *La végétation de l'Afrique: Mémoire accompagnant la carte de végétation de l'Afrique Unesco-AETFAT-UNSO*. Recherches sur les ressources naturelles, XX. Paris: ORSTOM : Unesco.

Xiao, Long-Qian, et Xun Gong. 2006. « Genetic Differentiation and Relationships of Populations in the Cycas Balansae Complex (Cycadaceae) and Its Conservation Implications ». *Annals of Botany* 97 (5): 807-12. https://doi.org/10.1093/aob/mcl039.

Xiao, Yong, Pengwei Xu, Haikuo Fan, Luc Baudouin, Wei Xia, Stéphanie Bocs, Junyang Xu, et al. 2017. « The genome draft of coconut (Cocos nucifera) ». *GigaScience* 6 (11): gix095. https://doi.org/10.1093/gigascience/gix095.

Yamamoto, Masaya, Yoshihiro Handa, Hiroki Aihara, et Hiroaki Setoguchi. 2018. « Development and Characterization of 43 Microsatellite Markers for the Critically Endangered Primrose Primula Reinii Using MiSeq Sequencing ». *Plant Diversity* 40 (1): 41-44. https://doi.org/10.1016/j.pld.2017.09.003.

YAMEOGO COULIBALY, Gertrude. 2017. « les modes de gestion de borassus aethiopum dans la provience de koulpelogho_Burkina faso ».

Young, Andrew D., et Jessica P. Gillung. 2020. « Phylogenomics — Principles, Opportunities and Pitfalls of Big-Data Phylogenetics ». *Systematic Entomology* 45 (2): 225-47. https://doi.org/10.1111/syen.12406.

Zeng, Chun-Xia, Peter M. Hollingsworth, Jing Yang, Zheng-Shan He, Zhi-Rong Zhang, De-Zhu Li, et Jun-Bo Yang. 2018. « Genome skimming herbarium specimens for DNA barcoding and phylogenomics ». *Plant Methods* 14 (1): 43. https://doi.org/10.1186/s13007-018-0300-0.

Zhou, Hai-fei, Zhong-wen Xie, et Song Ge. 2003. « Microsatellite Analysis of Genetic Diversity and Population Genetic Structure of a Wild Rice (Oryza Rufipogon Griff.) in China ». *Theoretical and Applied Genetics* 107 (2): 332-39. https://doi.org/10.1007/s00122-003-1251-y.

# ANNEXE

Tableau 1 : Récapitulatif des données de séquence pour la collection inter-spécifique (% :pourcentage ; CV : couverture).

| N° | Nom des espèces | RUN | TAG | # R1 R2 paired | alignements | % align | mapped reads | % RU | CV1X | CV3X | CV10X+ | meandepth | ST DEV |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Orania ravaka* | RUN46 | TAG32 | 121020 | 101464 | 0.838406875 | 99466 | 0.821897207 | 0.9378219 | 0.9130223 | 0.839369 | 53.9236 | 62.7016 |
| 2 | *Astrocaryum murumuru* | RUN46 | TAG39 | 65726 | 49465 | 0.752594103 | 48403 | 0.736436114 | 0.9345852 | 0.902727 | 0.76975 | 26.0108 | 28.037 |
| 3 | *Borassus aethiopum* | RUN66 | TAG-11 | 252406 | 190496 | 0.754720569 | 182095 | 0.721436891 | 0.9056518 | 0.8781627 | 0.786023 | 102.41 | 1082.9 |
| 4 | *Borassus aethiopum* | RUN66 | TAG-10 | 165920 | 124828 | 0.752338476 | 119091 | 0.717761572 | 0.9018166 | 0.8655609 | 0.730036 | 66.9526 | 688.146 |
| 5 | *Borassus aethiopum* | RUN66 | TAG-58 | 254130 | 187516 | 0.737874316 | 179444 | 0.706111046 | 0.90903463 | 0.88416893 | 0.817815 | 101.268 | 945.492 |
| 6 | *Borassus aethiopum* | RUN66 | TAG-60 | 276568 | 198377 | 0.717281103 | 189832 | 0.686384542 | 0.92088329 | 0.89428599 | 0.828635 | 107.925 | 1000.4 |
| 7 | *Borassodendron machadonis* | RUN67 | TAG-7 | 456194 | 310152 | 0.679868652 | 297338 | 0.651779725 | 0.93240502 | 0.92282679 | 0.896791 | 203.256 | 619.443 |
| 8 | *Lodoicea maldivica* | RUN67 | TAG-9 | 1376456 | 1075147 | 0.781097979 | 1003667 | 0.729167514 | 0.94296981 | 0.93669914 | 0.926215 | 655.202 | 1451.74 |
| 9 | *Borassus heineana* | RUN67 | TAG-10 | 375678 | 230481 | 0.61350678 | 221269 | 0.58898578 | 0.92702139 | 0.91656555 | 0.896456 | 149.29 | 298.307 |
| 10 | *Borassus aethiopum* | RUN67 | TAG-11 | 995232 | 781762 | 0.785507299 | 739635 | 0.743178475 | 0.92106688 | 0.91034681 | 0.887963 | 403.384 | 5263.43 |
| 11 | *Latania loddigesii* | RUN67 | TAG-12 | 727064 | 502408 | 0.69100932 | 479086 | 0.658932364 | 0.93528764 | 0.9267097 | 0.913923 | 335.089 | 641.929 |
| 12 | *Borassus flabellifer* | RUN67 | TAG-13 | 830746 | 619760 | 0.746028269 | 594126 | 0.715171665 | 0.91853767 | 0.90509041 | 0.88466 | 334.989 | 3085.57 |
| 13 | *Borassodendron borneense* | RUN67 | TAG-14 | 488574 | 361995 | 0.740921539 | 343239 | 0.702532267 | 0.92815368 | 0.91435254 | 0.88977 | 229.708 | 815.522 |
| 14 | *Cryosophila strauracantha* | RUN67 | TAG-15 | 177736 | 109745 | … | 105861 | 0.595608093 | 0.91171508 | 0.89366744 | 0.843587 | 66.8274 | 107.761 |
| 15 | *Phoenix rupicola* | RUN67 | TAG-16 | 300624 | 258849 | 0.861039039 | 247616 | 0.823673426 | 0.92821987 | 0.92065638 | 0.904246 | 171.21 | 183.219 |
| 16 | *Pritchardiopsis jennencyi* | RUN67 | TAG-17 | 189028 | 164165 | 0.868469221 | 159322 | 0.842848679 | 0.86755598 | 0.84984804 | 0.809393 | 102.746 | 112.822 |
| 17 | *Medemia argun* | RUN67 | TAG-18 | 821326 | 659760 | 0.803286393 | 637320 | 0.77596472 | 0.93153677 | 0.92051001 | 0.900391 | 412.866 | 1293.68 |
| 18 | *Borassus madagascariensis* | RUN67 | TAG-19 | 1123438 | 934686 | 0.831987168 | 892751 | 0.794659785 | 0.91649979 | 0.90345358 | 0.88249 | 482.319 | 6074.59 |
| 19 | *Chamaerops humilis* | RUN67 | TAG-20 | 800652 | 578157 | 0.722107732 | 547880 | 0.684292302 | 0.93781674 | 0.93011641 | 0.915164 | 383.503 | 734.424 |
| 20 | *Hyphaene thebaica* | RUN67 | TAG-21 | 1230478 | 970820 | 0.788977942 | 933687 | 0.758800239 | 0.93208881 | 0.92442623 | 0.911012 | 632.594 | 1425.51 |
| 21 | *Borassus akeassii* | RUN67 | TAG-23 | 975166 | 772044 | 0.791705207 | 733194 | 0.751865836 | 0.91609409 | 0.9059072 | 0.887232 | 410.814 | 4715.06 |
| 22 | *Borassus aethiopum* | RUN67 | TAG-24 | 459678 | 376463 | 0.818971106 | 356118 | 0.774711864 | 0.91261674 | 0.89363486 | 0.850882 | 198.664 | 2562.72 |
| 23 | *Borassus aethiopum* | RUN67 | TAG-25 | 495036 | 400435 | 0.808900767 | 378515 | 0.764621159 | 0.9205812 | 0.90012716 | 0.851717 | 210.581 | 2690.57 |
| 24 | *Podococcus_barteri* | RUN67 | TAG-32 | 248108 | 144061 | 0.58063827 | 138391 | 0.557785319 | 0.9422102 | 0.9268756 | 0.878456 | 91.2431 | 224.914 |

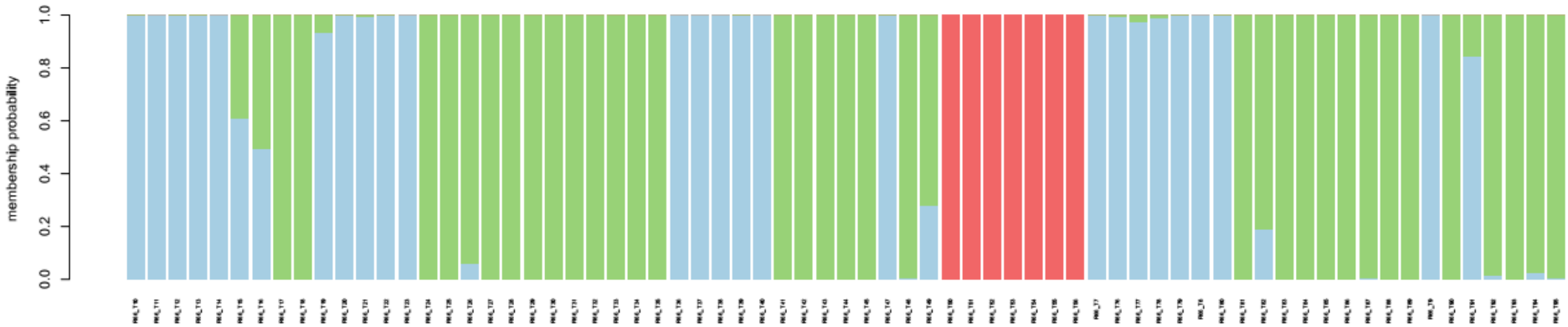


Figure 1 : Diagramme de l'attribution des individus par cluster génétique pour K= 3, ici chaque couleur identifie un groupe génétique (DAPC).

Tableau 2 : Liste complete de l'échantillonnage intraspécifique (*B. aethiopum*) réalisé en Afrique de l'Ouest

| N° d'ordre | ID | Nom de l'espèce | Localité | Latitude | Longitude |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | R66_T7 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3478889 | 2.31305556 |
| 2 | R66_T8 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3483333 | 2.3105 |
| 3 | R66_T9 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3505 | 2.30905556 |
| 4 | R66_T10 | *Borassus aethiopum* | Togbin (B) | 6.3494722 | 2.30752778 |
| 5 | R66_T11 | *Borassus aethiopum* | Hounviatoun (B)) | 6.7374444 | 1.98452778 |
| 6 | R66_T12 | *Borassus aethiopum* | Hounviatoun (B) | 6.7309167 | 1.98438889 |
| 7 | R66_T13 | *Borassus aethiopum* | Hounviatoun (B) | 6.73 | 1.98494444 |
| 8 | R66_T14 | *Borassus aethiopum* | Hounviatoun (B) | 6.7287222 | 1.98525 |
| 9 | R66_T15 | *Borassus aethiopum* | Savè (B) | 8.0918889 | 2.53613889 |
| 10 | R66_T16 | *Borassus aethiopum* | Savè (B) | 8.0923611 | 2.53772222 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 11 | R66_T17 | *Borassus aethiopum* | Savè (B) | 8.1001389 | 2.54425 |
| 12 | R66_T18 | *Borassus aethiopum* | Savè (B) | 8.0273056 | 2.47663889 |
| 13 | R66_T19 | *Borassus aethiopum* | Savè (B) | 8.1366389 | 2.60519444 |
| 14 | R66_T20 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7470278 | 1.63466667 |
| 15 | R66_T21 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7477222 | 1.63475 |
| 16 | R66_T22 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7479167 | 1.63425 |
| 17 | R66_T23 | *Borassus aethiopum* | Biguina (B) | 8.7514167 | 1.63438889 |
| 18 | R66_T24 | *Borassus aethiopum* | Pendjari (B) | 11.4676389 | 1.56683333 |
| 19 | R66_T25 | *Borassus aethiopum* | Pendjari (B) | 11.4671111 | 1.56555556 |
| 20 | R66_T26 | *Borassus aethiopum* | Pendjari (B) | 11.466 | 1.56569444 |
| 21 | R66_T27 | *Borassus aethiopum* | Pendjari (B) | 11.4663056 | 1.56552778 |
| 22 | R66_T28 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6946944 | 1.11477778 |
| 23 | R66_T29 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6958056 | 1.11322222 |
| 24 | R66_T30 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6956667 | 1.11230556 |
| 25 | R66_T31 | *Borassus aethiopum* | Pingou (B) | 10.6956389 | 1.11225 |
| 26 | R66_T32 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 10.696 | 1.11208333 |
| 27 | R66_T33 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 11.8196667 | 3.39822222 |
| 28 | R66_T34 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 11.8194444 | 3.39877778 |
| 29 | R66_T35 | *Borassus aethiopum* | Malanville (B) | 11.8195 | 3.39755556 |
| 30 | R66_T36 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.296722 | 1.727306 |
| 31 | R66_T37 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.296333 | 1.727778 |
| 32 | R66_T38 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.295167 | 1.727833 |
| 33 | R66_T39 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.295083 | 1.728 |
| 34 | R66_T40 | *Borassus aethiopum* | Agoua (B) | 8.295306 | 1.728167 |
| 35 | R66_T41 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivières (B) | 10.637639 | 2.927861 |
| 36 | R66_T42 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivières (B) | 10.642639 | 2.929306 |
| 37 | R66_T43 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivières (B) | 10.646389 | 2.929389 |
| 38 | R66_T44 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivières (B) | 10.639944 | 2.927167 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 39 | R66_T45 | *Borassus aethiopum* | Forêt des 3 Rivières (B) | 10.642333 | 2.926611 |
| 40 | R66_T47 | *Borassus aethiopum* | Togo | 8.099868 | 1.135458 |
| 41 | R66_T48 | *Borassus aethiopum* | Togo | 9.305644 | 1.236847 |
| 42 | R66_T49 | *Borassus aethiopum* | Togo | 9.305644 | 1.236847 |
| 43 | R66_T50 | *Borassus aethiopum* | Cameroon | 4.38297 | 11.25516 |
| 44 | R66_T51 | *Borassus aethiopum* | Cameroon | 4.38287 | 11.25516 |
| 45 | R66_T52 | *Borassus aethiopum* | Cameroon | 4.38287 | 11.25516 |
| 46 | R66_T53 | *Borassus aethiopum* | Cameroon | 4.38287 | 11.25516 |
| 47 | R66_T54 | *Borassus aethiopum* | Cameroon | 4.38287 | 11.25516 |
| 48 | R66_T55 | *Borassus aethiopum* | Cameroon | 4.38287 | 11.25516 |
| 49 | R66_T56 | *Borassus aethiopum* | Cameroon | 4.38287 | 11.25516 |
| 50 | R66_T57 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.99 | -16.75 |
| 51 | R66_T58 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 15.02 | -16.55 |
| 52 | R66_T59 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 15.02 | -16.55 |
| 53 | R66_T60 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.96 | -16.51 |
| 54 | R66_T61 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.91 | -16.48 |
| 55 | R66_T62 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.67 | -16.33 |
| 56 | R66_T63 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.6 | -16.19 |
| 57 | R66_T64 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.26 | -15.53 |
| 58 | R66_T65 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.17 | -15.54 |
| 59 | R66_T66 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.14 | -15.55 |
| 60 | R66_T67 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.09 | -15.56 |
| 61 | R66_T68 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.09 | -15.61 |
| 62 | R66_T70 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.17 | -16.66 |
| 63 | R66_T71 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.13 | -16.71 |
| 64 | R66_T72 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.12 | -16.7 |
| 65 | R66_T73 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.17 | -16.71 |
| 66 | R66_T74 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.18 | -16.68 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 67 | R66_T75 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.19 | -16.67 |
| 68 | R66_T76 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 69 | R66_T77 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 70 | R66_T78 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 71 | R66_T79 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 72 | R66_T80 | *Borassus aethiopum* | Côte d'Ivoire | 6.21666667 | -5.02555556 |
| 73 | R66_T81 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 74 | R66_T82 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 75 | R66_T83 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 76 | R66_T84 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 77 | R66_T85 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 78 | R66_T86 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.61803 | -0.067389 |
| 79 | R66_T87 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 80 | R66_T88 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 81 | R66_T89 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 82 | R66_T90 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 83 | R66_T91 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 84 | R66_T92 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.266396 | 0.590902 |
| 85 | R66_T93 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.488267 | 1.564316 |
| 86 | R66_T94 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.488267 | 1.564316 |
| 87 | R66_T95 | *Borassus aethiopum* | Burkina Faso | 11.488267 | 1.564316 |
| 88 | R66_T96 | *Borassus aethiopum* | Senegale | 14.77 | -16.46 |

Tableau 3 : Récapitulatif des données de séquence pour la collection intraspécifique (% : pourcentage ; CV : couverture).

| N° | Nom et origine des individus | RUN | TAG | # R1 R2 paired | alignements | % align | mapped reads | % RU | CV1X | CV3X | CV10X+ | meandepth | ST DEV |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Borassus aethiopum*_Togbin (B) | RUN66 | TAG-10 | 165920 | 124828 | 0.752338476 | 119091 | 0.717761572 | 0.9018166 | 0.8655609 | 0.730036 | 66.9526 | 688.146 |
| 2 | *Borassus aethiopum*_Hounviatoun (B) | RUN66 | TAG-11 | 252406 | 190496 | 0.754720569 | 182095 | 0.721436891 | 0.9056518 | 0.8781627 | 0.786023 | 102.41 | 1082.9 |
| 3 | *Borassus aethiopum*_Hounviatoun (B) | RUN66 | TAG-12 | 186962 | 138677 | 0.741738963 | 131972 | 0.70587606 | 0.9043541 | 0.8609973 | 0.747158 | 73.8899 | 775.013 |
| 4 | *Borassus aethiopum*_Hounviatoun (B) | RUN66 | TAG-13 | 137018 | 99831 | 0.728597702 | 95445 | 0.69658731 | 0.8960168 | 0.8474981 | 0.679096 | 53.8212 | 557.761 |
| 5 | *Borassus aethiopum*_Hounviatoun (B) | RUN66 | TAG-14 | 128778 | 95398 | 0.740794235 | 91027 | 0.706852102 | 0.8922004 | 0.8349386 | 0.637745 | 50.9041 | 521.984 |
| 6 | *Borassus aethiopum*_Savè (B) | RUN66 | TAG-15 | 423160 | 332456 | 0.785650818 | 320561 | 0.757540883 | 0.91278148 | 0.89125173 | 0.836401 | 175.221 | 1852.24 |
| 7 | *Borassus aethiopum*_Savè (B) | RUN66 | TAG-16 | 285920 | 211581 | 0.740000699 | 203102 | 0.710345551 | 0.90526558 | 0.87645068 | 0.79932 | 111.639 | 1153.78 |
| 8 | *Borassus aethiopum*_Savè (B) | RUN66 | TAG-17 | 505482 | 401174 | 0.79364646 | 387535 | 0.766664293 | 0.91633459 | 0.89658838 | 0.847428 | 214.347 | 2337.37 |
| 9 | *Borassus aethiopum*_Savè (B) | RUN66 | TAG-18 | 200276 | 148802 | 0.742984681 | 143283 | 0.71542771 | 0.897272 | 0.8540567 | 0.726841 | 77.8338 | 862.363 |
| 10 | *Borassus aethiopum*_Savè (B) | RUN66 | TAG-19 | 283242 | 222362 | 0.785060125 | 213786 | 0.75478213 | 0.90713338 | 0.87493538 | 0.789925 | 118.881 | 1282.09 |
| 11 | *Borassus aethiopum*_Biguina (B) | RUN66 | TAG-20 | 352742 | 290218 | 0.822748638 | 278312 | 0.788995923 | 0.90987456 | 0.88729736 | 0.823496 | 155.799 | 1657.04 |
| 12 | *Borassus aethiopum*_Biguina (B) | RUN66 | TAG-21 | 430410 | 339705 | 0.789259079 | 325725 | 0.756778421 | 0.914579 | 0.89399289 | 0.843233 | 183.897 | 1960.91 |
| 13 | *Borassus aethiopum*_Biguina (B) | RUN66 | TAG-22 | 317276 | 260864 | 0.822198969 | 250486 | 0.789489277 | 0.91172479 | 0.88258439 | 0.810408 | 138.847 | 1497.02 |
| 14 | *Borassus aethiopum*_Biguina (B) | RUN66 | TAG-23 | 212282 | 150784 | 0.710300449 | 144011 | 0.678394777 | 0.9122997 | 0.8851976 | 0.773708 | 80.9987 | 853.497 |
| 15 | *Borassus aethiopum*_Pendjari (B) | RUN66 | TAG-24 | 213922 | 159164 | 0.744028197 | 151651 | 0.70890792 | 0.9103847 | 0.8813151 | 0.778441 | 84.8947 | 879.404 |
| 16 | *Borassus aethiopum*_Pendjari (B) | RUN66 | TAG-25 | 257344 | 190846 | 0.741598794 | 182593 | 0.70952888 | 0.9093798 | 0.884467 | 0.803623 | 102.893 | 1043.55 |
| 17 | *Borassus aethiopum*_Pendjari (B) | RUN66 | TAG-26 | 326794 | 245027 | 0.749790388 | 233898 | 0.715735295 | 0.91512219 | 0.89211087 | 0.827078 | 131.044 | 1353.43 |
| 18 | *Borassus aethiopum*_Pendjari (B) | RUN66 | TAG-27 | 265510 | 197480 | 0.743776129 | 188831 | 0.711201085 | 0.90914393 | 0.88251363 | 0.796338 | 106.194 | 1097.49 |
| 19 | *Borassus aethiopum*_Pingou (B) | RUN66 | TAG-28 | 266392 | 196871 | 0.739027448 | 187819 | 0.705047449 | 0.9140371 | 0.890134 | 0.805034 | 105.671 | 1097.72 |
| 20 | *Borassus aethiopum*_Pingou (B) | RUN66 | TAG-29 | 248126 | 183291 | 0.738701305 | 174982 | 0.705214286 | 0.9069829 | 0.8850144 | 0.789251 | 98.7521 | 1032.11 |
| 21 | *Borassus aethiopum*_Pingou (B) | RUN66 | TAG-30 | 288984 | 210588 | 0.728718545 | 200978 | 0.695464109 | 0.91844355 | 0.89479995 | 0.814673 | 113.181 | 1164.43 |
| 22 | *Borassus aethiopum*_Pingou (B) | RUN66 | TAG-31 | 270688 | 203514 | 0.751839756 | 194727 | 0.719378029 | 0.9113754 | 0.8865569 | 0.809464 | 109.819 | 1108.78 |
| 23 | *Borassus aethiopum*_Malanville (B) | RUN66 | TAG-32 | 291428 | 229665 | 0.788067722 | 219040 | 0.751609317 | 0.91101645 | 0.88478715 | 0.811318 | 122.092 | 1293.96 |
| 24 | *Borassus aethiopum*_Malanville (B) | RUN66 | TAG-33 | 267400 | 207667 | 0.776615557 | 198364 | 0.741824981 | 0.91064852 | 0.87581302 | 0.784433 | 111.661 | 1198.5 |
| 25 | *Borassus aethiopum*_Malanville (B) | RUN66 | TAG-34 | 291524 | 225950 | 0.775064832 | 215809 | 0.740278673 | 0.91105971 | 0.88811911 | 0.807261 | 120.963 | 1268.43 |
| 26 | *Borassus aethiopum*_Malanville (B) | RUN66 | TAG-35 | 299562 | 220958 | 0.737603568 | 210890 | 0.703994499 | 0.91422035 | 0.89328037 | 0.823817 | 120.067 | 1241.51 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 27 | *Borassus aethiopum*_Agoua (B) | RUN66 | TAG-36 | 277594 | 207280 | 0.746702018 | 197457 | 0.711315807 | 0.91519677 | 0.89194007 | 0.821953 | 112.276 | 1166.46 |
| 28 | *Borassus aethiopum*_Agoua (B) | RUN66 | TAG-37 | 234474 | 174940 | 0.746095516 | 167091 | 0.712620589 | 0.9129888 | 0.8807389 | 0.784414 | 94.5951 | 975.511 |
| 29 | *Borassus aethiopum*_Agoua (B) | RUN66 | TAG-38 | 190462 | 145791 | 0.765459777 | 139169 | 0.730691687 | 0.9047647 | 0.8688109 | 0.756873 | 78.0942 | 797.276 |
| 30 | *Borassus aethiopum*_Agoua (B) | RUN66 | TAG-39 | 338886 | 258544 | 0.762923225 | 247308 | 0.729767532 | 0.91038918 | 0.88913308 | 0.822345 | 139.169 | 1461.86 |
| 31 | *Borassus aethiopum*_Agoua (B) | RUN66 | TAG-40 | 198632 | 152453 | 0.767514801 | 145166 | 0.730828869 | 0.9077136 | 0.8823053 | 0.768735 | 81.6097 | 868.259 |
| 32 | *Borassus aethiopum*_Forêt des 3 Rivières (B) | RUN66 | TAG-41 | 251972 | 194118 | 0.770395123 | 185486 | 0.736137349 | 0.9058218 | 0.8768653 | 0.778672 | 104.239 | 1127.1 |
| 33 | *Borassus aethiopum*_Forêt des 3 Rivières (B) | RUN66 | TAG-42 | 252460 | 194220 | 0.76930999 | 185650 | 0.735364018 | 0.9111164 | 0.8873312 | 0.79639 | 103.928 | 1061.63 |
| 34 | *Borassus aethiopum*_Forêt des 3 Rivières (B) | RUN66 | TAG-43 | 338508 | 248153 | 0.733078686 | 237001 | 0.700134118 | 0.91549919 | 0.88888309 | 0.817504 | 132.986 | 1419.59 |
| 35 | *Borassus aethiopum*_Forêt des 3 Rivières (B) | RUN66 | TAG-44 | 320202 | 248679 | 0.776631626 | 237586 | 0.74198787 | 0.91207891 | 0.88620351 | 0.811715 | 132.607 | 1411.4 |
| 36 | *Borassus aethiopum*_Forêt des 3 Rivières (B) | RUN66 | TAG-45 | 128072 | 92082 | 0.718986195 | 87884 | 0.686207758 | 0.8958901 | 0.8430542 | 0.652103 | 49.4631 | 518.769 |
| 37 | *Borassus aethiopum*_Togo | RUN66 | TAG-47 | 196402 | 144963 | 0.738093298 | 138262 | 0.703974501 | 0.9195055 | 0.8784418 | 0.755194 | 77.7523 | 804.415 |
| 38 | *Borassus aethiopum*_Togo | RUN66 | TAG-48 | 209340 | 154379 | 0.737455814 | 147294 | 0.70361135 | 0.9068266 | 0.8780588 | 0.765116 | 82.4376 | 862.985 |
| 39 | *Borassus aethiopum*_Togo | RUN66 | TAG-49 | 239928 | 177536 | 0.73995532 | 169529 | 0.706582808 | 0.9065389 | 0.8714203 | 0.773996 | 95.5841 | 997.074 |
| 40 | *Borassus aethiopum*_Cameroun | RUN66 | TAG-50 | 295960 | 210046 | 0.709710772 | 200662 | 0.678003784 | 0.92012369 | 0.89714069 | 0.819977 | 112.37 | 1158.22 |
| 41 | *Borassus aethiopum*_Cameroun | RUN66 | TAG-51 | 332798 | 234313 | 0.704069736 | 224053 | 0.673240224 | 0.91609384 | 0.89502644 | 0.822095 | 126.426 | 1313.81 |
| 42 | *Borassus aethiopum*_Cameroun | RUN66 | TAG-52 | 321134 | 229078 | 0.713340848 | 218584 | 0.680662901 | 0.92045829 | 0.89937679 | 0.827993 | 122.695 | 1267.94 |
| 43 | *Borassus aethiopum*_Cameroun | RUN66 | TAG-53 | 312574 | 223787 | 0.715948863 | 213982 | 0.684580291 | 0.91710799 | 0.88675019 | 0.811035 | 120.733 | 1249.14 |
| 44 | *Borassus aethiopum*_Cameroun | RUN66 | TAG-54 | 240066 | 173555 | 0.722947023 | 165712 | 0.690276841 | 0.9169897 | 0.8857402 | 0.78381 | 91.6193 | 970.161 |
| 45 | *Borassus aethiopum*_Cameroun | RUN66 | TAG-55 | 242050 | 171895 | 0.710163189 | 164206 | 0.678397025 | 0.9112434 | 0.8765447 | 0.776662 | 91.6056 | 986.538 |
| 46 | *Borassus aethiopum*_Cameroun | RUN66 | TAG-56 | 203238 | 155041 | 0.762854387 | 147849 | 0.727467304 | 0.9049818 | 0.8712551 | 0.76304 | 83.3927 | 855.127 |
| 47 | *Borassus aethiopum*_Togbin (B) | RUN66 | TAG-7 | 175472 | 131766 | 0.750923224 | 125811 | 0.716986186 | 0.899183 | 0.8612428 | 0.732621 | 70.7429 | 747.158 |
| 48 | *Borassus aethiopum*_Côte d'Ivoire | RUN66 | TAG-76 | 208604 | 147219 | 0.70573431 | 140405 | 0.673069548 | 0.9103185 | 0.8772618 | 0.768608 | 78.4797 | 837.771 |
| 49 | *Borassus aethiopum*_Côte d'Ivoire | RUN66 | TAG-77 | 213328 | 150993 | 0.707797382 | 143967 | 0.674862184 | 0.9065434 | 0.8734679 | 0.758968 | 80.4769 | 875.16 |
| 50 | *Borassus aethiopum*_Côte d'Ivoire | RUN66 | TAG-78 | 259898 | 187578 | 0.721736989 | 178586 | 0.687138801 | 0.9146877 | 0.8885151 | 0.801457 | 100.324 | 1058 |
| 51 | *Borassus aethiopum*_Côte d'Ivoire | RUN66 | TAG-79 | 459178 | 345009 | 0.751362217 | 329733 | 0.718094072 | 0.91754663 | 0.89637074 | 0.848607 | 186.477 | 1965.24 |
| 52 | *Borassus aethiopum*_Togbin (B) | RUN66 | TAG-8 | 89802 | 65102 | 0.724950447 | 62213 | 0.692779671 | 0.8844954 | 0.799938 | 0.515125 | 34.9855 | 359.608 |
| 53 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-80 | 374588 | 289990 | 0.774157207 | 276530 | 0.738224396 | 0.91611735 | 0.89445074 | 0.831711 | 155.202 | 1658.42 |
| 54 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-81 | 232328 | 172487 | 0.742428808 | 164788 | 0.709290314 | 0.9083369 | 0.8791445 | 0.779814 | 93.0582 | 973.711 |
| 55 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-82 | 326920 | 242803 | 0.74269852 | 231893 | 0.709326441 | 0.91609845 | 0.89705521 | 0.825596 | 129.353 | 1347.55 |
| 56 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-83 | 372504 | 270701 | 0.72670629 | 258534 | 0.694043554 | 0.91701411 | 0.8967394 | 0.835099 | 146.19 | 1523.85 |
| 57 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-84 | 336486 | 241321 | 0.717179912 | 230342 | 0.684551512 | 0.91766023 | 0.89762621 | 0.833839 | 129 | 1345.85 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 58 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-85 | 254088 | 182175 | 0.716976008 | 174118 | 0.685266522 | 0.9101771 | 0.877144 | 0.777771 | 98.5701 | 1014.55 |
| 59 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-86 | 363988 | 258160 | 0.709254151 | 246295 | 0.676656923 | 0.91884463 | 0.90099519 | 0.841563 | 138.658 | 1443.48 |
| 60 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-87 | 373350 | 280808 | 0.752130708 | 267776 | 0.717225124 | 0.91600418 | 0.89600313 | 0.835849 | 152.53 | 1573.07 |
| 61 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-88 | 302170 | 235608 | 0.779720025 | 224278 | 0.742224576 | 0.91457912 | 0.893021 | 0.822227 | 126.273 | 1290.99 |
| 62 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-89 | 278948 | 213009 | 0.763615441 | 203370 | 0.729060613 | 0.90891697 | 0.88114957 | 0.8071 | 114.99 | 1184.47 |
| 63 | *Borassus aethiopum*_Togbin (B) | RUN66 | TAG-9 | 182860 | 135618 | 0.741649349 | 129562 | 0.708531117 | 0.9063834 | 0.866103 | 0.74839 | 73.2681 | 774.619 |
| 64 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-90 | 293884 | 224882 | 0.76520668 | 214455 | 0.729726695 | 0.9123338 | 0.8901434 | 0.815202 | 120.256 | 1253.24 |
| 65 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-91 | 323202 | 247189 | 0.764812718 | 236304 | 0.73113409 | 0.91356956 | 0.88769896 | 0.820708 | 133.194 | 1394.67 |
| 66 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-92 | 394208 | 306929 | 0.778596578 | 292655 | 0.742387268 | 0.91511729 | 0.89296469 | 0.836774 | 163.819 | 1743.57 |
| 67 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-93 | 366230 | 275583 | 0.752486143 | 263696 | 0.720028397 | 0.91271967 | 0.88739167 | 0.826912 | 148.213 | 1585.84 |
| 68 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-94 | 327304 | 251823 | 0.769385648 | 240374 | 0.734405935 | 0.91374453 | 0.89280922 | 0.825285 | 134.965 | 1415.01 |
| 69 | *Borassus aethiopum*_Burkina Faso | RUN66 | TAG-95 | 268472 | 198129 | 0.737987574 | 189533 | 0.705969338 | 0.90764773 | 0.87758253 | 0.790699 | 106.37 | 1126.34 |

Tableau 4 : Récapitulatif des données de séquence pour le palmier *Raphia vinifera* (% : pourcentage ; CV : couverture).

| N° d'ordre | spécimens | localité de collecte | RUN | TAG | # R1 R2 paired | alignements | % align | mapped reads | % RU | CV1X | CV3X | CV10X+ | meandepth | ST DEV |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | *Raphia vinifera* | Njekuro | RUN37 | TAG100 | 487092 | 334194 | 0.68610037 | 325607 | 0.668471254 | 0.87173646 | 0.84947536 | 0.802325 | 166.798 | 200.671 |
| 2 | *Raphia vinifera* | *Babadjou-1* | RUN41 | TAG19 | 394352 | 85684 | 0.21727796 | 83802 | 0.212505579 | 0.8420862 | 0.7932702 | 0.698861 | 43.4837 | 47.2281 |
| 3 | *Raphia vinifera* | *Babadjou-2* | RUN37 | TAG98 | 567138 | 395872 | 0.69801706 | 385791 | 0.680241846 | 0.87461031 | 0.85477445 | 0.812333 | 198.242 | 231.009 |
| 4 | *Raphia vinifera* | *Babadjou-3* | RUN41 | TAG18 | 438894 | 99901 | 0.22761988 | 97578 | 0.222327031 | 0.8426909 | 0.8000937 | 0.715593 | 50.7318 | 54.4837 |
| 5 | *Raphia vinifera* | *Bafoussam* | RUN41 | TAG17 | 311158 | 69230 | 0.22249147 | 67621 | 0.217320461 | 0.844644 | 0.8010088 | 0.69093 | 35.078 | 37.154 |
| 6 | *Raphia vinifera* | Bali | RUN37 | TAG99 | 504632 | 346474 | 0.68658745 | 337862 | 0.669521552 | 0.87611028 | 0.85722277 | 0.811403 | 173.505 | 196.087 |
| 7 | *Raphia vinifera* | *Bambili-1* | RUN41 | TAG25 | 404650 | 92561 | 0.22874336 | 90539 | 0.223746448 | 0.8540195 | 0.8120121 | 0.714451 | 46.8145 | 50.6245 |
| 8 | *Raphia vinifera* | *Bambili-2* | RUN41 | TAG26 | 386784 | 83028 | 0.21466245 | 81145 | 0.209794097 | 0.8435684 | 0.797876 | 0.698904 | 42.1573 | 46.2192 |
| 9 | *Raphia vinifera* | Bie | RUN37 | TAG102 | 599446 | 405948 | 0.67720529 | 395186 | 0.659252043 | 0.8779835 | 0.8550524 | 0.814352 | 202.697 | 236.679 |
| 10 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-1* | RUN41 | TAG20 | 395982 | 85521 | 0.21597194 | 83669 | 0.211294958 | 0.84829143 | 0.80625573 | 0.718622 | 43.4302 | 45.835 |
| 11 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-2* | RUN37 | TAG92 | 544626 | 362728 | 0.66601301 | 353167 | 0.648457841 | 0.8749032 | 0.85337342 | 0.809658 | 180.831 | 210.007 |
| 12 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-3* | RUN41 | TAG23 | 169326 | 39043 | 0.23057888 | 38032 | 0.224608152 | 0.822336 | 0.7611109 | 0.602419 | 19.7116 | 21.309 |
| 13 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-4* | RUN41 | TAG24 | 408532 | 89822 | 0.21986527 | 87809 | 0.214937875 | 0.8453377 | 0.8031369 | 0.706274 | 45.5042 | 49.9284 |
| 14 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-5* | RUN37 | TAG93 | 515166 | 335898 | 0.65201896 | 326911 | 0.634574098 | 0.87159953 | 0.85083414 | 0.811922 | 167.32 | 189.523 |
| 15 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-6* | RUN37 | TAG94 | 434390 | 294092 | 0.67702295 | 286322 | 0.6591358 | 0.87220863 | 0.84600773 | 0.790605 | 145.81 | 177.287 |
| 16 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-7* | RUN41 | TAG21 | 134550 | 31642 | 0.23516908 | 30900 | 0.229654404 | 0.8153995 | 0.7363909 | 0.5482 | 16.0537 | 17.5917 |
| 17 | *Raphia vinifera* | *Elack Oku-8* | RUN41 | TAG22 | 256364 | 60127 | 0.23453761 | 58696 | 0.228955704 | 0.8366842 | 0.7852779 | 0.654915 | 30.5773 | 33.8057 |
| 18 | *Raphia vinifera* | *Fongo Tongo-1* | RUN37 | TAG96 | 503248 | 343293 | 0.68215472 | 334564 | 0.664809398 | 0.87107156 | 0.85257568 | 0.808714 | 171.357 | 199.177 |
| 19 | *Raphia vinifera* | *Fongo Tongo-2* | RUN37 | TAG97 | 541218 | 376626 | 0.69588595 | 367120 | 0.678321859 | 0.87315241 | 0.85389217 | 0.807459 | 189.172 | 220.664 |
| 20 | *Raphia vinifera* | *Foumban* | RUN37 | TAG95 | 526862 | 368995 | 0.70036366 | 359770 | 0.682854334 | 0.86864162 | 0.84671553 | 0.801528 | 184.15 | 222.603 |
| 21 | *Raphia vinifera* | *Kumbo-1* | RUN41 | TAG12 | 450454 | 89415 | 0.19849974 | 87308 | 0.193822233 | 0.8455974 | 0.8027313 | 0.708539 | 45.4189 | 49.1511 |
| 22 | *Raphia vinifera* | *Kumbo-2* | RUN37 | TAG87 | 432950 | 292640 | 0.67592101 | 285018 | 0.658316203 | 0.87342072 | 0.85260337 | 0.801735 | 145.908 | 171.098 |
| 23 | *Raphia vinifera* | *Kumbo-3* | RUN37 | TAG88 | 453236 | 309602 | 0.68309225 | 301633 | 0.665509801 | 0.87218462 | 0.85122575 | 0.798956 | 154.312 | 187.358 |
| 24 | *Raphia vinifera* | *Kumbo-4* | RUN41 | TAG13 | 452954 | 96470 | 0.21297968 | 94299 | 0.208186703 | 0.8429317 | 0.8022785 | 0.711257 | 49.1029 | 54.6996 |
| 25 | *Raphia vinifera* | *Kumbo-5* | RUN37 | TAG89 | 583070 | 405754 | 0.69589243 | 395345 | 0.678040373 | 0.87505382 | 0.85459513 | 0.812064 | 203.079 | 243.026 |
| 26 | *Raphia vinifera* | *Kumbo-6* | RUN37 | TAG90 | 577450 | 396365 | 0.68640575 | 386433 | 0.669205992 | 0.87621923 | 0.85642575 | 0.816971 | 198.314 | 229.481 |
| 27 | *Raphia vinifera* | *Kumbo-7* | RUN37 | TAG91 | 460876 | 297202 | 0.64486326 | 289263 | 0.627637369 | 0.87669083 | 0.85434473 | 0.809412 | 148.129 | 166.229 |
| 28 | *Raphia vinifera* | *Ndop - Oku* | RUN41 | TAG27 | 276294 | 66821 | 0.24184745 | 65372 | 0.236603039 | 0.8424544 | 0.7960166 | 0.681847 | 34.0039 | 36.2929 |