

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT des Sciences de la Nature et de
la Vie

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE
LA VIE

FILIERE : BIOTECHNOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par:

Saoud Dounya et Rahli Meriem

Intitulé

**La culture *in vitro* du palmier dattier (*Phoenix
dactylifera* L.)**

Soutenu devant le jury composé de:

Dr. HADJI Abbas	MAA	Université de M'Sila	Président.
Dr. GUETTOUCHI Ahlem	MCB	Université de M'Sila	Rapporteur.
Dr. BELKASSAM Abdelwahab	MCA	Université de M'Sila	Examineur.

Année universitaire : 2020 /2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Tous d'abord, nous remercions le Dieu Tout-Puissant pour les bienfaits de la santé, du bien-être et de la force dans lesquels nous avons surmonté toutes les difficultés, avec un esprit de volonté, un esprit de recherche et de diligence. Nous remercions notre Professeur GEORGE AHAM pour son thème proposé et pour sa confiance en nous, son aide modeste et éthique et son soutien moral et cognitif pour nous dans ce travail.

Nous remercions également tous les professeurs qui ont fait l'effort dans notre éducation et nous avons eu la chance d'en tirer profit tout au long de notre carrière universitaire.

Nous avons le plus grand respect et la plus grande reconnaissance pour les membres du Comité, qui ont été honorés d'avoir été empêchés d'évaluer notre travail :

- Mr. BELKASSAM Abdelwahab .

- Mr. HADJI Abbas .

Enfin et surtout, nous voudrions remercier nos généreux parents pour les grands efforts qu'ils ont déployés pour nous amener à ce jour et pour réussir grâce à leur patience, à leur soutien continu et à leurs prières, qui nous ont accompagnés tout au long de nos études.

Dédicace

Grâce au compromis de Dieu dans cette œuvre, nous nous dédions :

La famille SAOUD, en particulier le Père FOUDIL et la mère FAWES

*Les sœurs BEKHJA, HIBET ELRAHMANE, SAMIA, AYET
ELRAHMANE.*

Le frère MOUHAMED EL SEDIQ.

L'oncle HASSEN.

L'oncle SAID.

Les amies CHEYMA, BOUCHRA, KHAWLA, SOUHIR,

SAMIRA, BASSMA, KAMAR.

La famille RAHIL, en particulier le Père SAID et la mère HAMAMA

Les sœurs NADJET, DOUNYA.

Les frères ISHAQ, MOHASSIM BILALH.

L'amie LINDA.

Professeur encadré GEUTTOUCHI AHLEM.

Tous les étudiants de Biotechnologie Végétale, promotion 2020/2021

Résumé:

Le principal intérêt de la multiplication *in vitro* du palmier dattier est de répondre aux besoins en plants beaucoup plus rapidement que par le recours aux rejets. Deux méthodes de micro propagation du Palmier dattier sont actuellement en cours: La micro propagation du palmier dattier par la technique d'organogénèse s'adresse aux potentialités méristématiques préexistantes chez les explants mis en culture et qui permettent la néoformation directe de bourgeons et l'embryogénèse somatique qui utilise la différenciation et la dédifférenciation cellulaires pour la formation d'embryons à partir de cellules somatiques.

Mots clés: Palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L., organogénèse, embryogénèse, *in vitro*.

Abstract:

The main advantage of *in vitro* propagation of the date palm is that it responds to the needs for plants much more quickly than by resorting to suckers. Two methods of micro propagation of the date palm are currently underway: The micro propagation of the date palm by the organogenesis technique addresses the meristematic potentialities pre-existing in explants placed in culture and which allow the direct neoformation of buds and somatic embryogenesis which uses cell differentiation and dedifferentiation for the formation of embryos from somatic cells.

Key words: Date palm, *Phoenix dactylifera* L., organogenesis, embryogenesis, *in vitro*.

المخلص:

أهم هدف من التكاثر عن طريق الزراعة النسيجية هو تغطية الحاجة لنخيل التمر بطريقة سريعة لا عن طريق زراعة الفسائل. هناك حاليا طريقتين لإكثار نخيل التمر عن طريق زراعة الأنسجة: طريقة تشكل الأعضاء و هي استعمال المريستم الموجود في القطع المزروعة التي تسمح بالتشكيل المباشر للبراعم، الثانية هي تشكل الاجنة التي تستعمل التمايز و إعادة التمايز الخلوي لتشكيل أجنة انطلاقا من الخلايا الجسمية.

الكلمات المفتاحية: نخيل التمر، *Phoenix dactylifera* L ، تشكل الأعضاء، تشكل الاجنة، الزراعة النسيجية.

Liste des Tableaux

Tableau 01: Liste des espèces du genre Phoenix.....	5
Tableau 02: Cycle végétatif annuel du palmier dattier.....	14
Tableau 03: Différentes usages des organes du palmier	15
Tableau 04: Composition de la solution de Murashige et Skoog	23
Tableau 05: Effet de différentes concentrations d'ABA sur la teneur en protéines solubles chez des embryons somatiques de palmier dattier.....	33
Tableau 06: Effet de différentes concentrations en saccharose sur la teneur en protéines solubles chez des embryons somatiques de palmier dattier.....	34

Liste des Figures

Figure 01: Rejets de palmiers dattiers.....	7
Figure 02: Plantule par graine.....	8
Figure 03: Schéma d'un palmier-dattier, extrait de au niveau des racines, 4 zones ont été distinguées I à IV.....	10
Figure 04: Feuilles ou Palmes.....	11
Figure 05: Inflorescences et fleurs du palmier dattier.....	12
Figure 06: Stades de maturité du fruit du palmier dattier.....	13
Figure 07: Morphologique et anatomie du fruit et de la graine du palmier dattier.....	14
Figure 08: Répartition géographique des palmiers dattiers dans le monde.....	16
Figure 09: Répartition du palmier dattier en Algérie	18
Figure 10: Différenciation de pro-embryons sur des tissus issus de culture <i>in vitro</i> (X1).....	32
Figure 11: Aspect d'une suspension embryogène de la variété DN.....	32
Figure 12: Effet de l'Aba et du saccharose sur la morphologie des embryons somatiques différenciés (1x).....	33

Liste des Abréviations

- ABA :** Acide abscissique
- A 2-4D :** Acide dichlorophenoxy Acétique
- IPA :** Iso pentonyl Aminopurine
- AIB :** Acide beta – indole butyrique
- ANA :** Acide naphthalèneacétique
- AIA :** Acide indole 3-acétique
- PPO :** peroxydases et les polyphénolase ydase
- PH :** Potentiel hydrogène
- INRA :** Institut national de la recherche agronomique
- DN :** Deglet–nour

Sommaire

Remercîment

Dédicace

Résumé

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Abréviations

Introduction 1

Chapitre I : Généralité sur Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

I.1.	Historique.....	2
I.2.	Présentation de l'espèce.....	3
I.3.	L'origine.....	4
I.4.	Taxonomie	4
I.5.	Classification	4
I.6.	Multiplication	7
I.6.1.	Par rejet.....	7
I.6.2.	Par germination des graines (semis).....	7
I.7.	Morphologie.....	8
I.7.1.	Système racinaire.....	8
I.7.1.a.	Les racines de premier ordre.....	8
I.7.1.b.	Les racines secondaire.....	9
I.7.2.	Appareil végétatif.....	11
I.7.2.a.	Tronc ou stipe.....	11

I.7.2.b.	Bourgeons.....	11
I.7.2.c.	Feuilles.....	11
I.7.3.	Appareil reproducteur.....	12
I.7.3.a.	Spathes ou inflorescence.....	12
I.7.3.b.	Fleurs.....	12
I.7.3.c.	Fruit <<la datte ; Tmar>>.....	13
I.7.3.d.	Graine.....	13
I.8.	Cycle végétatif annuel.....	14
I.9.	La pollinisation et La fructification chez le palmier dattier.....	15
I.10.	Utilisation des sous-produits du palmier dattier (<i>phoenix dactylifera</i> L.)...	15
I.11.	Répartition géographique et production du palmier dattier (<i>phoenix dactylifera</i> L.).....	16
I.11.1.	Dans le monde.....	16
I.11.2.	En Algérie.....	17

Chapitre II : culture *in vitro* des plantes

II.1.	Définition.....	19
II.1.1.	L'explant.....	20
II.2.	Historique.....	20
II.3.	L'objectif.....	21
II.4.	Milieu de culture.....	21
II.4.1.	Sels minéraux.....	21
II.4.1.1.	Macroélément.....	21

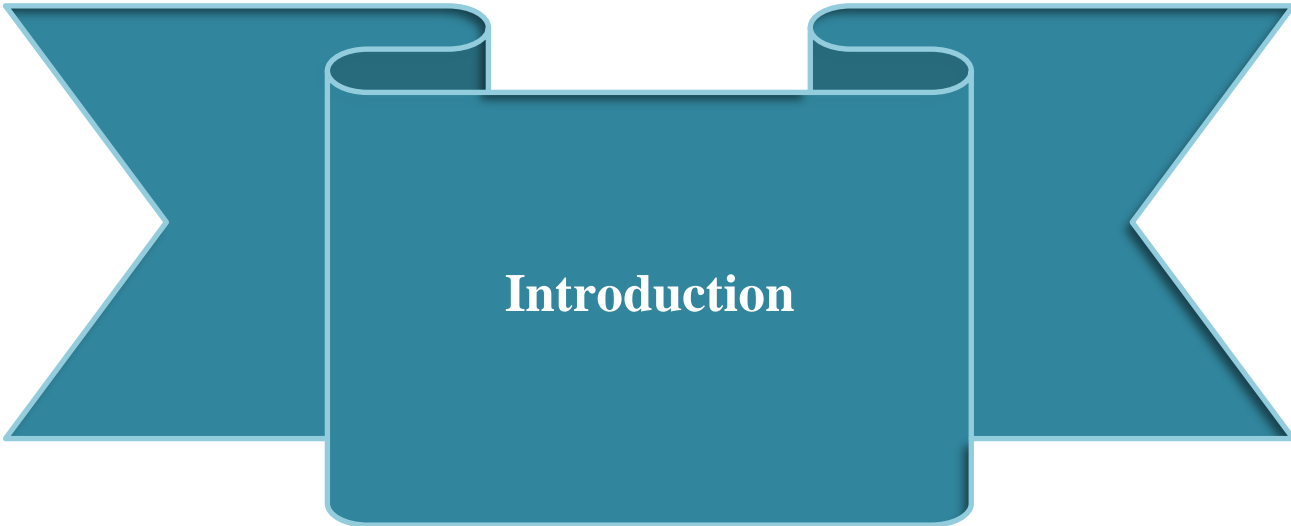
II.4.1.2.	Microélément.....	21
II.4.2.	Substances organiques.....	21
II.4.2.a.	Source de carbone.....	21
II.4.2.b.	Vitamines.....	22
II.4.2.c.	Acides aminés.....	22
II.4.3.	Régulateurs de croissances.....	22
II.5.	Le milieu de culture utilisé dans la culture de palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).....	22
II.6.	Facteurs influencés sur la culture <i>in vitro</i>	23
II.6.1.	Les facteurs internes, liés à la plante.....	24
II.6.2.	Les facteurs externes.....	24
II.6.2.1.	Effet de l'explant.....	24
II.6.2.2.	L'âge physiologique et ontogénique de l'organe.....	24
II.6.2.3.	L'époque de prélèvement.....	24
II.6.2.4.	La taille de l'explant.....	24
II.6.2.5.	Effet de génotypes.....	25
II.6.2.6.	Effet de milieu de culture.....	25
II.6.2.6.a.	Le saccharose.....	25
II.6.2.6.b.	Les vitamines.....	25
II.6.2.6.c.	Les régulateurs de croissances.....	25
II.6.3.	Facteurs d'incubation.....	26
II.6.3.1.	La photopériode.....	26
II.6.3.2.	La température.....	26

II.7.	Les avantages et Les inconvénients de la culture <i>in vitro</i>	26
II.7.1.	Les avantages.....	26
II.7.2.	Les inconvénients.....	27

Chapitre III : La multiplication par culture *in vitro* du palmier dattier

III.1.	Par organogenèse.....	29
III.1.1.	Les étapes d'organogenèse.....	29
III.1.1.a.	Initiation des bourgeons.....	29
III.1.1.b.	Multiplication des souches.....	30
III.1.1.c.	Elongation et enracinement des bourgeons.....	30
III.1.1.d.	Acclimatation des plantules.....	30
III.2.	Par embryogenèse somatique.....	31
III.2.1.	Les étapes d'embryogenèse somatique.....	31
III.3.	L'objectif.....	34
III.4.	La Comparaison entre les deux méthodes de micro propagation.....	34
III.4.1.	Par organogenèse.....	34
III.4.1.1.	Les Avantages.....	34
III.4.1.2.	Les Inconvénients.....	35
III.4.1.3.	Avenir.....	35
III.4.2.	Par embryogenèse somatique.....	35
III.4.2.1.	Les Avantages.....	35
III.4.2.2.	Les Inconvénients.....	35

III.4.2.3.	Avenir.....	35
Conclusion	36



Introduction

Introduction

Le dattier, *Phoenix dactylifera* L., est un palmier subtropical anciennement domestiqué (**Munier, 1973**). Il est largement cultivé pour ses multiples usages et ses services écosystémiques, en particulier pour ses fruits comestibles dont des milliers de variétés ont été sélectionnées (**Bouguedoura, 1979**) et pour sa capacité d'adaptation aux conditions des climats arides les plus sévères (**Ben Aissa, 2008**). Sa présence crée un microclimat permettant le développement de diverses formes de vie animale et végétale indispensables pour le maintien et la survie des populations du désert (**El Houmaizi, 2002**). Le palmier dattier avec le cocotier est abondamment cultivé, mais non naturalisé (**Perrier De La Bathie, 1933**).

Sahara algérien, le palmier dattier (*Phaenix dactylifera* L.) est le pilier des écosystèmes oasiens où il permet de limiter les dégâts d'ensablement, joue un rôle protecteur contre le rayonnement solaire intense pour les cultures sous-jacentes (arbres fruitiers, cultures maraîchères et céréales). Par sa présence dans ces zones désertiques, les diverses formes de vies animales et végétales, indispensables pour le maintien et la survie des populations, sont possibles. Il a de plus un rôle socioéconomique majeur pour les populations de ces régions pour lesquelles il fournit d'une part un fruit, la datte dont les qualités alimentaires sont indéniables et qui constitue une source de revenus très appréciables pour plus de 100 000 familles du Sud algérien avec 9 % des exportations agricoles, d'autre part une multitude de sous-produits (culinaire, artisanal et menuiserie...). (**Bouguedoura et al., 2010**).

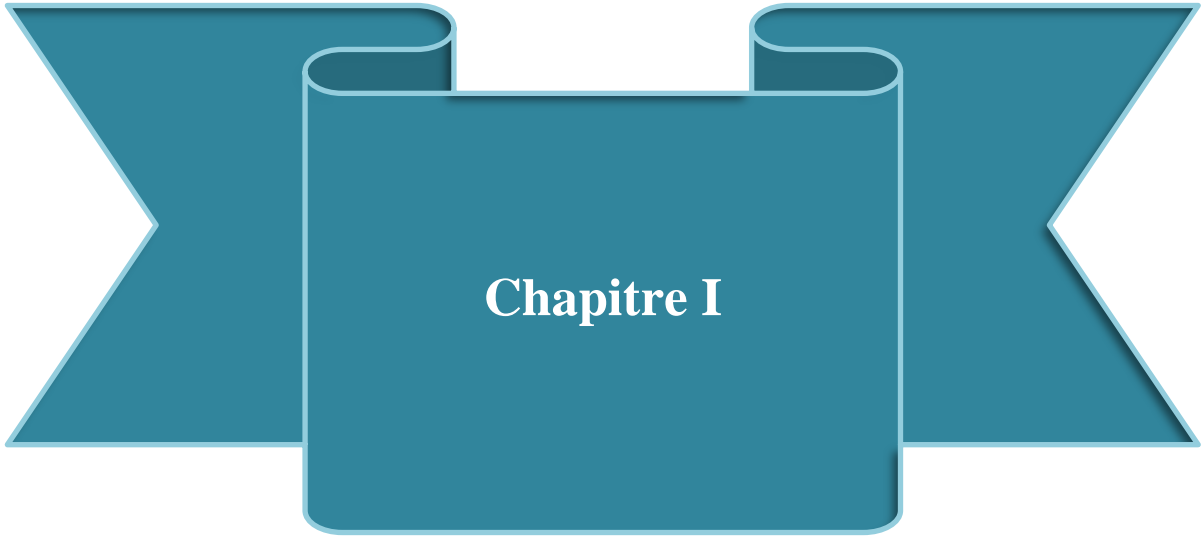
L'exploitation du palmier dattier est une source majeure de revenus financiers notables pour les habitants des oasis. Le fruit peut être utilisé comme élément principal frais, stocké après séchage au soleil puis consommé durant toute l'année, ou encore transformé en sirop (**Siboukeur et al., 2009**). Dans les pays où la phoeniciculture est installée, la multiplication de cette espèce se fait principalement à partir des rejets, (**Munier, 1973 ; Belguedj, 2002 ; Zaid, 2002**), mais qui reste une méthode lente et ne répond pas à la demande accrue pour repeupler, rénover et créer des palmeraies, car la production naturelle de rejets pour un palmier ne dépasse guère 20 à 40 rejets durant toute sa vie (**Djerbi., 1991**). Cette méthode traditionnelle reste donc limitée en raison du nombre restreint de rejets produits et ne peut répondre par conséquent aux besoins importants exigés pour l'extension des palmeraies (**Benmihoub, 2008**).

La technique de la multiplication par la culture *in vitro* permet de produire un grand nombre de plants en un temps restreint. Ce mode de multiplication est un moyen pour remédier au manque de rejets. C'est une méthode qui permet d'obtenir un grand nombre de plants

Introduction

identiques à partir d'un seul rejet de cette monocotylédone arborescente en gagnant un temps de l'ordre de plusieurs années. Chez le palmier dattier, deux (02) méthodes différentes de micro propagation ont été explorées. L'organogenèse et l'embryogenèse somatique (**Khelafi, 2012**).

Notre travail est devisé en trois chapitres. Le premier chapitre constituée des généralités sur le palmier dattier, et le deuxième chapitre constituée des généralités sur la culture *in vitro* des plantes. Le troisième est le dernier chapitre constituée la culture *in vitro* du palmier dattier.



Chapitre I

I.1. Historique :

Le palmier dattier a une origine ancienne. Il est connu depuis l'antiquité : considéré par les égyptiens comme un symbole de fertilité, il est représenté par les carthaginois sur les pièces de monnaies et monuments, et utilisé par les grecs et latins comme ornements lors de célébrations triomphales (**Ouennoughi, 2005 ; Benoit, 2003**).

Les palmiers les plus anciens remontent au miocène. Le palmier dattier a été cultivé dans les zones chaudes entre l'Euphrate et le Nil vers 4500 ans avant J.C. De là, sa culture fut introduite en Basse Mésopotamie vers l'an 2500 ans avant J.C. Depuis, elle progressa vers le Nord et gagna la région côtière du plateau Iranien puis la vallée de l'Indus (**Munier, 1973**). Cette évolution de l'aire géographique de la culture du dattier a donné lieu à de nombreuses hypothèses qui ont été classées en deux groupes :

- Celles du premier groupe font parvenir le dattier d'une ou de plusieurs espèce de Phoenix réparties dans son aire actuelle de culture et plus ou moins passées dans les formes cultivées.
- Celles du second groupe font parvenir le dattier cultivé d'un Phoenix existant encore dans son aire actuelle de culture ou au voisinage de celle-ci. (**Munier, 1981**).

A partir de son aire d'origine, la propagation du palmier dattier s'est réalisée, dans l'ancien continent vers l'Est et l'Ouest

* Vers l'Est, la culture du palmier dattier fut introduite en basse Mésopotamie (Irak actuellement) elle progressa vers le Nord du pays et gagna la région côtières du plateau Iranien puis vers la vallée de l'Indus (**Munier, 1973**).

* Vers l'Ouest, à partir de l'Egypte, la culture du palmier dattier gagna la Libye d'où elle progressa dans différentes directions, vers le Maghreb, elle se développa en Tunisie dans la régionale "Djerid", en Algérie dans le Souf, l'Oued Rhigh, le Tidikel, la Saoura et les Zibans, au Maroc dans le Tafilalet et la vallée du Draâ et enfin en Mauritanie dans l'Adrar mauritanien (**Djerbi, 1994**).

Au Maghreb, au cours des siècles, le palmier a fait l'objet de différentes plantations réparties dans des lieux disposants relativement d'eau. Le palmier dattier permet une pérennité de la vie dans les régions désertiques. Ses fruits sont un excellent aliment grâce à leurs effets toniques et l'égerment laxatifs (**Munier, 1973**).

I.2.Présentation de l'espèce :

Le palmier dattier est une plante dioïque. Il comporte des pieds mâles (dokkar) et des pieds femelles (nakhla). Il se multiplie aussi bien par semis de graines (noyaux) que par plantations des rejets (djebbars). La multiplication par noyaux ne reproduit pas fidèlement la « variété » dont il est issu. On obtient en moyenne par semis de noyaux, 50% de sujets mâles et 50% de sujets femelles. (Buelguedj, 2007).

I.3.L'origine :

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) prend son origine de la haute antiquité .il est considéré comme le plus ancien arbre cultivé au monde. Bien que largement cultivée. L'existence de la forme sauvage du palmier dattier n'est pas connu jusqu'à présent (Djerbi, 1990 ; Barrow, 1998).

I.4.Taxonomie :

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* par LINNE en 1734. Le genre *Phoenix* comprend douze espèces dont cinq, en dehors du palmier dattier, sont à fruits consommables : *Phoenix atlantica* Chev, *Phoenix reclinata* Jacq, *Phoenix farinifera* Roxb, *Phoenix humilis* Royal et *Phoenix acoulis* Roxb.

Phoenix, dérive du mot *Phoinix*, nom du dattier chez les Grecs. *dactylifera* vient du Latin *dactylus* dérivant du Grec *daktulos*, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit (Munier, 1973).

Du point de vue botanique, le palmier dattier est une plante angiosperme (Djerbi, 1992), monocotylédone arborescente, dioïque (Calcat, 1961 ; Bouguedoura, 1979 et Djerbi, 1992) dont la tige monopodiale couverte des bases des feuilles mortes, porte le nom de stipe qui peut atteindre 30 à 40 m (Ben Abdellah, 1990).

I.5.Classification du palmier dattier :

La place du palmier dattier dans le règne végétal est rappelée ci-dessous (Feldman, 1976) :

Groupe : Spadiciflores

Ordre : Palmales

Famille : Palmacées

Chapitre I : Généralité sur Le palmier dattier

Sous-famille : Coryphoïdées

Tribu : Phoenicées

Genre : *Phoenix*

Espèce : *Phoenix dactylifera* L.

Le genre *Phoenix* comporte au moins douze espèces, dont la plus connue est *dactylifera* et dont les fruits " dattes " font l'objet d'un commerce international important (**Espiard, 2002**).

La famille des Arecaceae est la plus importante des monocots. Actuellement, elle compte 190 genres et 2364 espèces (**Govaerts et Dransfield, 2005**). La tribu des Phoeniceae ne comporte qu'un seul genre : Phoenix. Sur les 109 taxons de Phoenix décrits, (**Chevalier, 1952 ; Moor, 1963 ; Uhl et Dransfield, 1987**) retiennent 12 à 19 espèces toutes anciennes, dont 12 semblent parfaitement distinctes (**Corner, 1966**). Récemment, des études moléculaires ont eu pour conséquence des données dépendantes sur l'histoire évolutive du genre (**Barrow, 1999**), ce qui a donné comme résultat des classifications mieux élaborées avec des groupes nécessairement plus petits. Ainsi sur les douze espèces retenues par **Moor (1963)**, **Barrow (1998)** a réduit deux espèces au rang de synonyme, il a inclut une nouvelle espèce de l'île Andaman, ainsi que deux variétés de *P. loureiri* et considère la présente liste incomplète (Tableau 01),

Un recensement récent dénombre 13 espèces dans le genre *Phoenix* (**Barrow, 1998 ; 1999 ; Zohary et Hopf, 2000**), dont une espèce en Algérie (**Maire, 1959 ; Quezel et Santa, 1962 ; Ozenda, 2004**) et 33 noms synonymes des espèces existantes (**Barrow, 1998**).

Tableau 01 : Liste des espèces du genre *Phoenix* selon **Barrow (1998)**.

Espèces	Noms communs	Distribution
<i>Phoenix acaulis</i> L.	Palmier nain (Dwarf)	Le Nord de l'Inde et le Népal.
<i>P. andamanensis</i> L.		Iles Andamans.
<i>P. caespitosa</i> L.		Somalie, Djibouti et le Sud de la péninsule arabique (Arabie Saoudite et le Yémen).

Chapitre I : Généralité sur Le palmier dattier

<i>P. canariensis</i> L.	Palmier des Canaries	Iles Canaries et le Cap Vert.
<i>P. dactylifera</i> L.	Palmier dattier	Les pays de la rive Méditerranéenne, l'Afrique, une partie de l'Asie ; existe en Amérique du Nord et en Australie.
<i>P. loureiri</i> var. <i>loureiri</i> <i>P. loureiri</i> var. <i>humilis</i>		L'Inde, l'Indochine, le Sud de la Chine, Le Taiwan et même aux Philippines.
<i>P. paludosa</i> L.	Palmier Juliana	Les pays du Bengale, l'île Andaman et Nicobar, de l'Indochine jusqu'à la péninsule Malaisienne et le Nord de Sumatra.
<i>P. pusilla</i> L.		Le Sri Lanka, le Tamoul et l'Inde.
<i>P. reclinata</i> L.	Palmier nain (Dwarf)	Régions tropicales et subtropicales Africaine, le Nord et le Sud-Ouest de Madagascar et les îles Comores.
<i>P. roebelenii</i> L.		Le Nord du Laos, le Vietnam, le Sud de la Chine et les rives du fleuve Mékong.
<i>P. rupicola</i> L.		L'Ouest du Bengale en Inde.
<i>P. sylvestris</i> L.	Palmier à sucre	L'Inde et le Pakistan.
<i>P. theophrasti</i> L.	Dattier sauvage	La Crète et le Sud de la Turquie.

I.6. Multiplication :

I.6.1. Par Rejet :

Elle se base sur l'utilisation des rejets prélevés sur la plante-mère. La reproduction par rejets permet la conservation des caractères génétiques de la plante-mère. Elle assure une homogénéité du sexe, de la variété, de la vigueur et de la qualité des fruits. En général, les rejets qui se trouvent au niveau du tronc sont les plus utilisés car ils ont une meilleure survie. Cependant, La production des rejets dépend de l'âge et de la variété. Les rejets sont produits pendant la phase juvénile de la plante (**Tisserat, 1983**). La qualité du rejet est un paramètre très important car il détermine sa réussite au champ. Il faut donc prendre en considération certains critères afin d'obtenir des rejets de bonne qualité comme le poids (10 à 25 kg), l'âge (2-5 ans), le diamètre de la base (20-30 cm) et la formation de ses propres racines (**Abahmane, 2011**). (Figure 01).



Figure 01 : Rejets de palmiers dattiers (**Bezato, 2013**).

I.6.2. Par Germination des graines :

Cette méthode, très ancienne, est rarement employée du fait que le palmier dattier est une espèce dioïque. Un semis peut générer un pied mâle ou femelle avec un ratio de 1:1. Il faut donc attendre plusieurs années jusqu'à la floraison pour connaître le sexe d'un dattier. De plus, la multiplication sexuée engendre un brassage génétique qui ne permet pas la conservation des caractères de la plante-mère. Ces plantes produisent généralement des fruits de qualité inférieure (**Zaid & De Wet, 1999 ; Eke et al., 2005**). Cependant, la propagation sexuée reste une méthode simple de multiplication et permet d'enrichir la diversité génétique

du palmier dattier. Cette qualité est très intéressante et primordiale pour les programmes de sélection et d'amélioration variétale (Tisserat, 1982). Dans certains pays, le nombre de génotypes issus de semis est important. À titre d'exemple, 3,5 millions pieds en Égypte et plus de 2 millions au Maroc sont issus de semis (Abahmane, 2011). (Figure 02).



Figure 02 : Plantule par graine (Bezato, 2013).

I.7. Morphologie :

I.7.1. Système racinaire :

Le système racinaire du dattier est de type fasciculé comme chez presque la totalité des monocotylédones. Les racines de premier ordre ne ramifient pas et n'ont relativement que peu de radicelle. Il y aurait quatre zones d'enracinement chez les palmiers dattiers (Munier, 1973). L'extension de ces quatre zones d'enracinement est fonction de la nature du sol, du mode de culture, de la profondeur de la nappe phréatique, de la variété cultivée et de l'origine de la plante. (Figure 03).

I.7.1.a. Les racines de premier ordre :

Sont sensiblement cylindriques sur toute leur longueur, leur extrémité conique ne présente jamais de poils absorbants ; elles prennent toutes naissance à la base du stipe, leur longueur est en moyenne de quatre mètres, mais peut atteindre dix mètres. Leur diamètre varie entre 7 et 12.5 mm, il est en moyenne de 9.5 mm. Ces racines forment un tapis qui couvre de grandes

superficielles (**Djerbi, 1994**). Elles permettent les échanges gazeux avec l'air atmosphérique grâce à la présence de nombreux méats aérifères (**Zaid, 2002**).

I.7.1.b. Les racines secondaires :

Apparaissent sur la racine principale qui se développe directement à partir du MAR. Ces racines produisent des racines latérales de même type avec approximativement le même diamètre sur toute leur longueur (**Munier, 1973 et Oihabi, 1991**). Le système racinaire du palmier est dense, formé de plusieurs types de racines dont le diamètre ne dépasse pas 1,5 cm et qui émergent partiellement au-dessus du niveau du sol à une hauteur allant jusqu'à 50 cm de la base du tronc. Ces racines, dépourvues de poils absorbants, sont structurées ainsi:

D'abord les racines du premier ordre (auxirhyzes), qui émettent des racines du deuxième ordre (mésorhyses), donnant naissance à leur tour à des racines de troisième ordre (brachyrhyses), **INRA, 2003**.

Il est possible de distinguer trois types de racines (**Zaid, 2002**) :

- Les racines respiratoires. localisées à moins de 0,25 m de profondeur qui peuvent émerger sur le sol.
- Les racines de nutrition, allant de 0,30 à 0,40 m de profondeur.
- Les racines d'absorption. qui peuvent rejoindre le niveau phréatique à une profondeur variant d'un mètre à 1,8 m.

Au niveau des racines, 4 zones ont été distinguées I à IV (**Munier, 1973**).

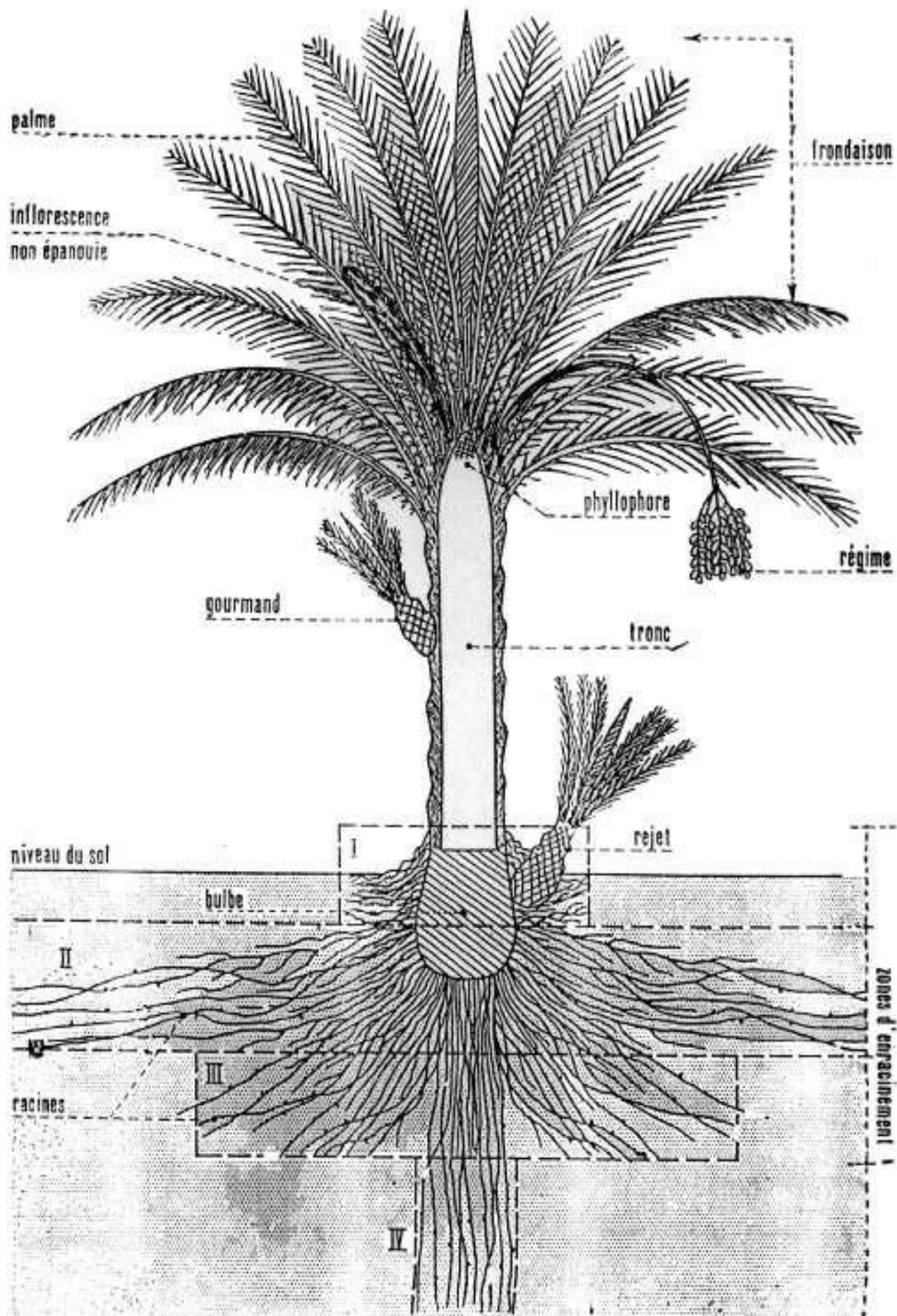


Figure 03 : Schéma d'un palmier-dattier, extrait de Sedra (2003).

I.7.2.Appareil végétatif :

I.7.2.a.Tronc ou stipe :

Le tronc ou stipe monopodique, est généralement cylindrique. Il est toutefois tronconique chez certaines variétés. Il porte les palmes qui sont des feuilles composées et pennées issues du bourgeon terminal. Chaque année, apparaissent 10 à 20 feuilles. Une palme vit entre 3 et 7 ans (Munier, 1973).

I.7.2.b.Bourgeons :

A l'aisselle de chaque palme, se trouve un bourgeon axillaire qui peut se développer pour donner naissance à un rejet, à la base du stipe ou aérien attaché au tronc, dénommé vulgairement "rkeb" dans la partie basale de l'arbre ou une inflorescence dans la partie supérieure. La plupart des bourgeons axillaires végétatifs finissent par avorter durant la phase juvénile du palmier. Le bourgeon apical ou terminal est responsable de la croissance en hauteur du palmier et du développement des feuilles et de bourgeons axillaires. Grâce aux très faibles variations de température jour et nuit au niveau de ce bourgeon et aux différences de température qui surgissent pendant les saisons froides et chaudes (allant jusqu'à 15°C) par rapport à l'extérieur du bourgeon, ce dernier permet au palmier dattier de tolérer et de s'adapter à l'hostilité des conditions sahariennes (Al-Bakr, 1972).

I.7.2.c.Feuilles :

Les feuilles jeunes de plants issus de graines et âgés de moins de deux ans, présentent un pétiole et un limbe entier (Figure 04). Après ce stade, les feuilles adultes montrent un pétiole ou rachis bien développé, un limbe penné découpé en folioles composées et une série d'épines solitaires et/ou groupées, différentes en taille, nombre et position. (Sedra, 2003).

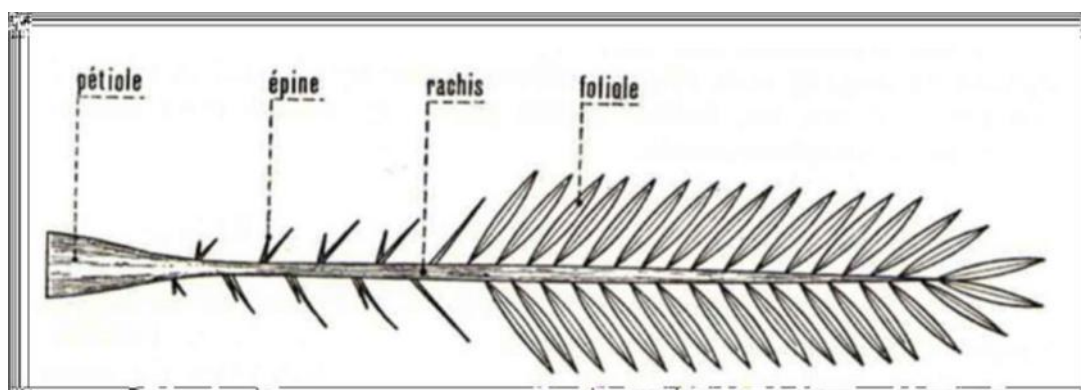


Figure 04: Feuilles ou Palmes (Munier, 1973).

I.7.3.Appareil de reproduction :

I.7.3.a.Spathes ou inflorescences :

L'inflorescence de cette plante dioïque est en forme de grappe d'épi .un seul ovule par fleur est fécondé. Un seul carpelle se développe pour donner le fruit appelé datte et les autres avortent (**Bellabaci. 1988**). (Figure 05).

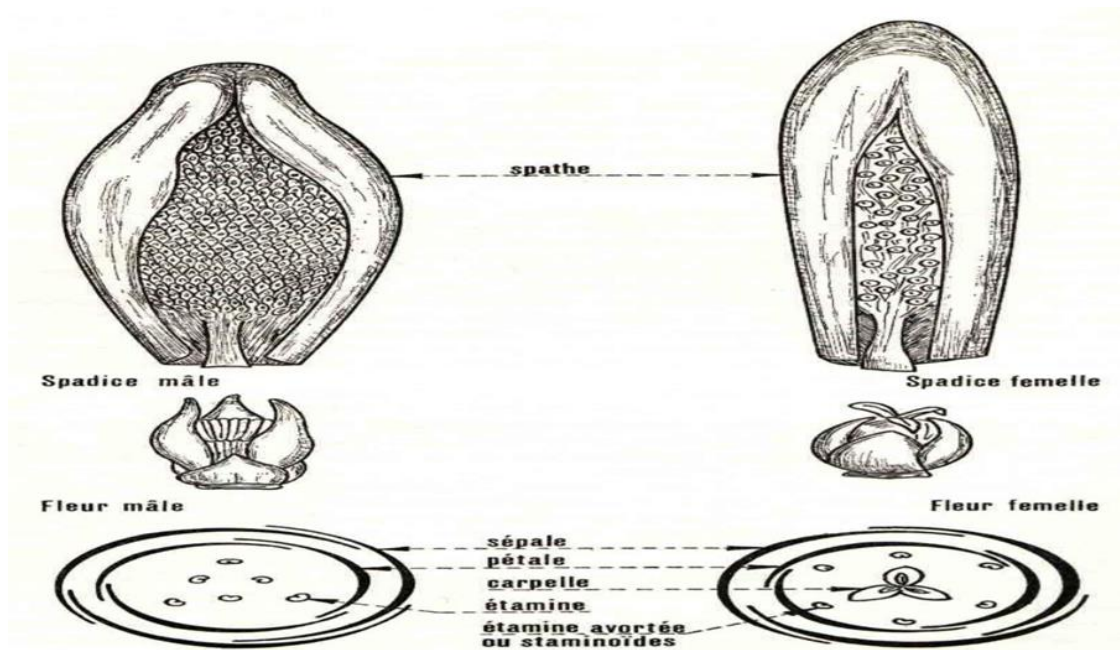


Figure 05 : Inflorescences et fleurs du palmier dattier (**Munier, 1973**).

I.7.3.b.Fleurs :

Les fleurs femelles ont une couleur entre ivoire et vert clair. Elles sentent à maturité la pâte à pain, l'anis ou le sperme. La fleur femelle, de 3 à 4 millimètres, est globulaire. (**Peyron, 2000**) :

- La corolle est constituée de trois pétales ovales et arrondis et de trois étamines avortées, ou staminodes.
- Le calice est en forme de cupule, ou cupuliforme. Il comporte trois sépales soudés.
- Le gynécée est formé de trois carpelles indépendants comportant chacun un ovule.

Les fleurs mâles sont blanc ivoire. Elles sont inodores. La fleur mâle est un peu plus allongée que la fleur femelle. (**Peyron, 2000**) :

- La corolle est composée de trois pétales légèrement allongés et pointus et de trois étamines remplies de pollen.

- Le calice, en forme de cupule, comporte trois sépales soudés.

I.7.3.c.Fruit : « la datte ; Tmar » :

Le fruit est le résultat de la fécondation de la fleur femelle par la fleur male. Il est caractérisé par sa couleur, ses dimensions, sa longueur, son diamètre et son poids. (Allam, 2008). (Figure 06).

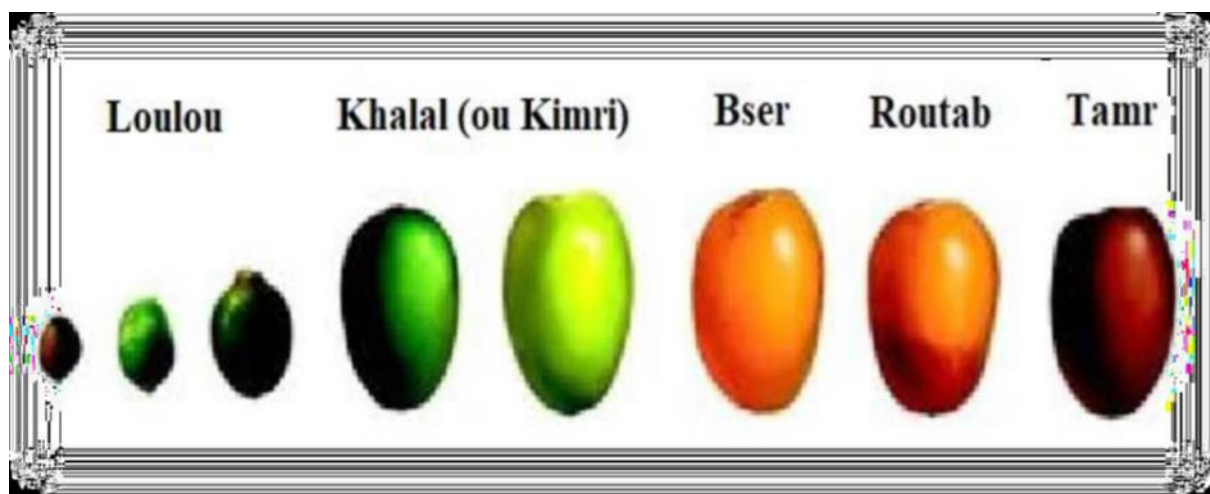


Figure 06 : Stades de maturité du fruit du palmier dattier (Peyron, 2000).

I.7.3.d.Graine :

Elle est contenue dans la datte, composée d'un albumen blanc dur et corné, protégée par une enveloppe cellulosique (Espiard, 2002). Selon, Djerbi 1994, elle constitue un sous-produit intéressant ; c'est pour cette raison qu'elle a fait l'objet de plusieurs travaux, par la mesure de ses dimensions, par la description de sa couleur mais aussi par la surface qu'elle présente et qui peut être : lisse, ridée, bosselée, striée (Ipgri, 2005). La taille et la morphologie externe des graines de palmier dattier varient énormément selon la variété. D'une manière générale, ces graines ont une forme ellipsoïde avec un sillon longitudinal (Meerow, 2004). La membrane extérieure du noyau peut être striée ou lisse (Ben Salah et Hellali, 2003). Sur la face dorsale se trouve le port germinatif (Iossi et al., 2006). A la périphérie de la graine, l'embryon de petite taille, occupe une position latérale, son extrémité aigüe est orientée vers l'extérieur (Iossi et al., 2006). Des coupes sont réalisées sur la variété Deglet-Nour (Yakoub-Bougdal, 1984). (Figure 07).

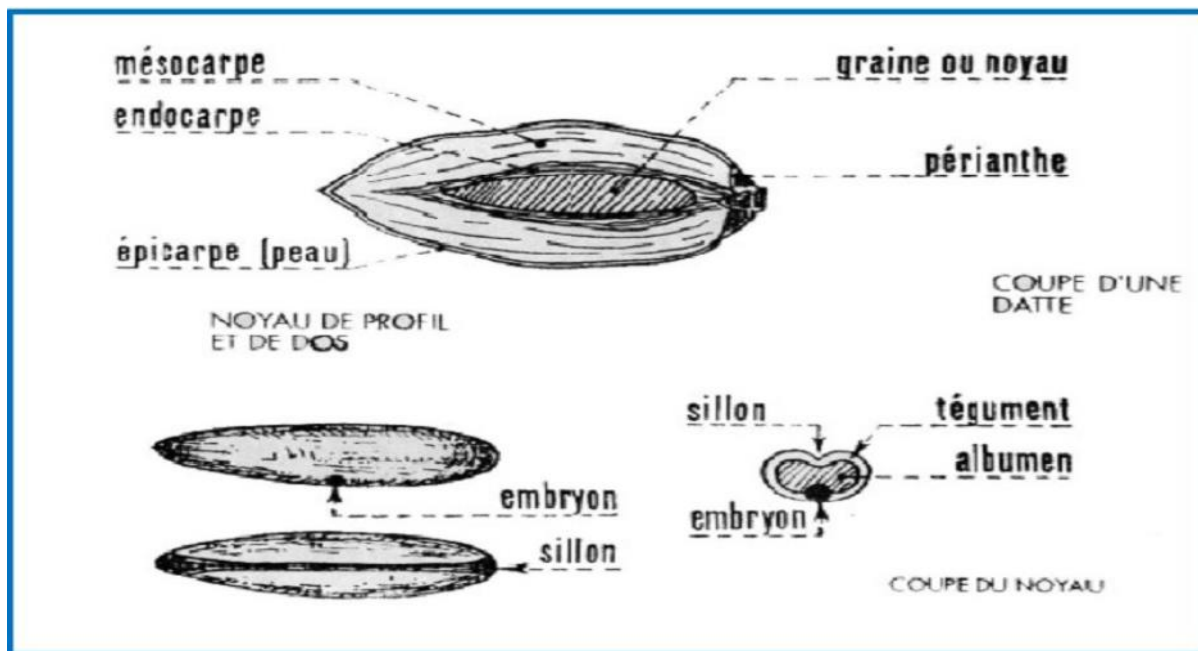


Figure 07 : Morphologie et anatomie du fruit et de la graine du palmier dattier (Munier, 1973).

I.8.Cycle végétatif annuel :

Selon (Belguedj, 2002). Le cycle de production de datte passe généralement par quatre phases:

- Phase I jeune: croissance et développement (5 -7 ans).
- Phase II juvénile: période d'entrée en production (30 ans).
- Phase adulte III: début décroissance de production (60 ans).
- Phase de sénescence IV: Chute de la production (80ans et plus).

Tableau 02 : Cycle végétatif annuel du palmier dattier. (Belguedj, 2002).

Stade et période	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Apparition des spathes (floraison)												
Croissance des spathes												
Ouverture des spathes (fécondation)												
Nouaison												
Nouaison												
Prématuration												
Maturation (tmar)												

I.11.2.En Algérie :

L'Algérie est un pays phoenicicole classé au sixième rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de culture avec 160 000 ha et plus de 2 millions de jardins et sa production annuelle moyenne de dattes de 500 000 tonnes. Le palmier dattier en Algérie est établi en plusieurs oasis réparties sur le Sud du pays où le climat est chaud et sec. Sa culture s'étend depuis la frontière Marocaine à l'ouest jusqu'à la Frontière tuniso-libyenne à l'Est et depuis l'Atlas Saharien au nord jusqu'à Regaine (Sud-Ouest), Tamanrasset (centre) et Djanet (sud-est). Près d'un millier de cultivars a été inventorié et les trois régions principales de culture se distinguent sur le plan de la diversité génétique. A cette catégorie, il faut ajouter un grand nombre de pieds francs ou « Khats » qui poussent au hasard dans les oasis et qui représentent une source appréciable pour de nouvelles sélections de cultivars appréciés pour leur datte et pour leur résistance au bayoud (**Aberlanc- Bertossi, 2010**). La distribution des cultivars principaux montre une répartition est-ouest très marquée. Une cinquantaine de cultivars se retrouvent dans deux ou trois régions mais la majorité des cultivars reste endémique à leur région ou à leur zone d'origine. A l'Est, le cultivar Deglet Nour, dont les dattes sont destinées à l'exportation vers les pays du Nord, continue à prendre de l'ampleur et frôle aujourd'hui les 50 % de la population des palmiers dattiers plantés. Les cultivars produisant des dattes sèches (Dégela Beida, Tinnaser) sont exportés vers les pays d'Afrique subsaharienne. Parfois, les dattes comme celles du cultivar Hmira sont exportées vers la Russie ou la Chine. Parmi les cultivars émergents, Tafezwin est exportable vers les pays d'Amérique du Sud, Bentqbal, en mode congelé, est très renommé sur le marché local à Ghardaïa (est). Agaz, datte primeur produite au Tidikelt (ouest), se commercialise bien sur les marchés de Ouargla et de Ghardaïa (**Aberlanc-Bertossi, 2010**). (Figure 09).



Figure 09 : Répartition du palmier dattier en Algérie (Dakhia et al., 2013).



Chapitre II

II.1.Définition :

La culture *in vitro* est un terme très général pour désigner la culture de cellules ou de tissus qui se développent dans un milieu nutritif en conditions d'asepsie pour une période de temps indéfinie. Les trois principaux champs d'action de la culture *in vitro* concernent :

- la culture de cellules individuelles ou de protoplastes.
- la culture de tissus ou d'organes.
- la culture de plantes entières.

La micro propagation s'inscrit dans ce dernier champ d'activités et a pour principal objectif la multiplication de clones à grande échelle. Elle consiste à multiplier un individu donné à partir d'un fragment de végétal placé sur un milieu nutritif en conditions aseptiques. La base biologique de la méthode est le développement de bourgeons préexistants sur les fragments de plantes mis en culture, ou l'induction de nouveaux bourgeons dits « adventifs » (néoformation) sur les explants (**Lamine, 2015**).

La multiplication *in vitro* trouve son fondement dans le concept de « totipotence cellulaire » énoncé au début du siècle, la cellule unité morphologique et physiologique de l'être vivant est capable d'autonomie. Elle possède toute l'information génétique nécessaire à régénérer la plante entière, à condition bien sûr de créer les conditions favorables à ce développement Ce concept énoncé des **1902** par **Haberlandt**, ne sera finalement démontré par **Steward** et son équipe qu'en **1958**, lorsque ces chercheurs obtiendront les premiers « embryons artificiels » appelés « embryons somatiques » à partir de cellules de carotte qui évolueront par la suite en jeunes plantules (**Zryd, 1988 ., Margara, 1989 ., Auge et al., 1989 ., Boxus, 1995 ., Toute, 1998 in Azzoug et al., 2008**).

La technique *in vitro* est un mode de multiplication végétative artificielle des plantes, qui doit respecter la conformité variétale des caractères végétatifs et productifs. Il s'agit d'un ensemble de méthodes faisant intervenir d'une part l'asepsie (stérilisation du matériel, désinfection des explants), et d'autre part des conditions de culture parfaitement contrôlées (milieux de culture définis pour chaque type de plante, température, lumière, humidité,...). Les cultures *in vitro* de plantes sont des cultures d'explants de plantes sur un milieu nutritif artificiel en conditions stériles dans un environnement contrôlé et dans un espace réduit C'est donc une méthode pour maintenir et cultiver indéfiniment des plantes ou des cellules sur des milieux nutritifs artificiels (**Zryd, 1988**).

Ces méthodes s'appliquent aux organes ou aux fragments d'organes :

II.1.1. Les explants :

Les explants peuvent être des parties d'organes ou des organes entiers, (tige, feuille, racine, fleurs, etc.), des tissus, des pièces florales, des graines ou des embryons, des bourgeons ou des apex ou des méristèmes, des cellules somatiques ou sexuelles, des cellules végétales débarrassées de la paroi ou protoplastes. L'explant est choisi en fonction de la technique utilisée, l'objectif visé, mais aussi de l'espèce choisie (**Togo, 2009**).

II.2. Historique :

Dès 1878 il y a donc plus de 120 ans que les principes théoriques de la création d'un système artificiel dans lequel les organes pourraient survivre hors de l'influence de l'organisme entier. Depuis cette orientation de recherche lentement d'abord d'une manière plus rapide ensuite a permis de grands développements à la biologie (**Nozeran, 1972**).

La culture indéfinie des tissus des végétaux a été réalisée il y a 70 ans c'est en effet au printemps 1937 qui fut isolée la première souche tissulaire dans l'activité s'est maintenue jusqu'à présent grâce à des repiquages réguliers.

Dès 1941 on savait obtenir des plantes entières à partir de petits fragments d'organes ou colonies tissulaires leur enracinement ne posait aucun problème grâce aux auxines rhizogènes dont le maniement était connu depuis assez longtemps (**Margara, 1989**).

En 1944 Buvat par les techniques de culture de tissus met en évidence le phénomène de dédifférenciation : la rejuvénalisation.

En 1949 Limasset et Cornuet notent l'absence de Virus dans les méristèmes de tabacs virosés.

En 1955 la découverte de la kinétine, substance douée d'une puissante activité caulogène, puis d'autres cytokinines ont permis de provoquer presque à volonté la néoformation de bourgeons adventifs. Cette multiplication végétative *in vitro* fut enfin facilitée par la mise au point à partir de 1962 de solutions minérales particulièrement appropriées (**Margara, 1989**).

En 1966 **Guha** et **Maheswari** en Inde obtenaient des plantes haploïdes de *Datura innoxia* M.LL à partir de culture d'anthers.

En 1971 au Japon, **Takebe** et **Coll.** régénéraient des plantes entières de *Nicotina tabacum* à partir de protoplastes (**Anonyme, 1996**).

Plusieurs autres recherches sont menées par d'autres chercheurs: **Euwen 1978**, **Bouguédoura 1979**, sur différentes parties de la plante et ont donné des résultats de plus en plus prometteurs. On trouve aussi les travaux de **Yakoub-Bougdal 1984 ; 1987 et Yakoub et al., 1998 ; 2000 et Yakoub-Bougdal 2005. (Himour, SD)**.

II.3.L'objectif de la culture *in vitro* :

Le but est d'étudier le comportement des tissus et des cellules isolés en dehors de l'organisme, et leurs exigences environnementales et nutritives (pour une croissance normale par le biais des cultures *in vitro* (**Haberlandt, 1854-1945**).

Et de permettre la régénération de la plante entière autonome et fertile à partir de la propriété des cellules végétales : la totipotence (**Novello et al., 2005**).

II.4.Melieu de culture:

Un milieu de culture est une solution aqueuse comprenant des sels minéraux, des substances organiques, et éventuellement des régulateurs de croissance, cette solution est solidifiée par la gélose (**Auge et al., 1989**).(Yakoub-Bougdal et al, 2000).

II.4.1.Sels minéraux :

Les milieux de culture sont différents essentiellement par leur concentration en sels, les exigences de ces derniers varient avec l'espèce, la nature du tissu et son état physiologique mais aussi avec le mode de culture et le type d'organogenèse Parmi les éléments nécessaires à la vie de la plante, on distingue généralement les macroéléments et les microéléments «oligoéléments» (**Margara, 1989**). (**Yakoub et al., 1998**).

II.4.1.1.Macroélément :

Ils sont généralement utilisés en grande quantité, de l'ordre de 50 à 400 mg/l. Le carbone (C), L'oxygène (O) et l'hydrogène (H) constituent près de 95% de la matière sèche.

Les macroéléments nécessaires à la croissance sont:

L'azote (N), le phosphore (P), le potassium (K), qui entrent dans la constitution des protéines et des acides nucléiques. Le magnésium (Mg), le soufre (S) et le calcium (Ca) interviennent dans le maintien de l'équilibre entre cations et anions dans la plante (**Margara, 1989**).

II.4.1.2.Microélément :

Ils jouent un rôle essentiel dans les mécanismes enzymatiques comme activateurs ou constituants des coenzymes.

Les principaux sont : le fer (Fe), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn). A ces éléments sont associés le nickel (Ni), l'iode (I) et l'aluminium (Al). Le fer est apporté sous forme chélatée (Fe-EDTA) pour éviter sa précipitation (**Margara, 1989**).

II.4.2.Substances organiques :

II.4.2.a.Source de carbone :

Pour la culture *in vitro* les sucres remplissent deux fonctions principales dans le milieu de culture : source d'énergie car la plante n'est pas encore arrivée à satisfaire ses besoins énergétiques et le maintien du potentiel osmotique des tissus (**Zryd et al., 1988**). En général

le saccharose constitue la meilleure source de carbone mais on peut dans un cas particulier utiliser d'autres sources telles que le galactose et le lactose (Téoulé, 1993).

II.4.2.b. Vitamines :

En culture *in vitro* certaines vitamines sont favorables aux croissances des tissus (Téoulé, 1993). De ce fait il n'est pas exclu que le manque de certains d'entre-elles puisse être un facteur limitant du phénomène d'organogenèse (Margara, 1989). Les vitamines les plus fréquemment utilisées sont : la thiamine HCL, la pyridoxine, la biotine, le pantothénate de calcium et le myo-inositol autrement dit des vitamines de groupe B (Gautheret, 1977).

II.4.2.c. Acides aminés :

Ils sont apportés au milieu de culture, soit en mélange ou individuellement dans le but de favoriser l'organogenèse et la prolifération des cals (Margara, 1989).

II.4.3. Régulations de croissances :

Appelés généralement hormones végétales, Ils affectent la vitesse de croissance des cellules et leur différenciation et sont impliqués dans les corrélations entre organes, La découverte de ces substances auxines, gibbérellines, cytokinines, acide abscissique, éthylène, On trouve ces substances de croissance naturellement dans toutes les plantes cependant on a pu synthétiser artificiellement des molécules possédant les mêmes propriétés, Les hormones le plus utilisées sont principalement: les auxines, les cytokinines Car ces hormones sont capables d'orienter les explants vers la formation de nouveaux organes, Les milieux ainsi constitués sont liquides, Il est nécessaire de les solidifier par l'ajout d'un gélifiant pour éviter que les explants ne tombent au fond des récipients et s'asphyxient. (Auge, 1989).

II.5. Le Milieu de culture utilisé dans la culture de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) :

Le milieu de base utilisé est constitué par la solution de Murashige et Skoog (1962) dont la composition est rappelée dans le tableau 04. A ce milieu de base nous avons ajouté selon les essais des quantités variables de diverses substances (PVP, Charbon actif, sucres,...) et des régulateurs de croissance, selon (Souidi, 2005), qui a préparé de nombreux milieux de culture :

- Milieu M1 : 2,4-D : 0,5 mg/l + AIB : 1 mg/l + BAP : 0,2 mg/l.
- Milieu M2 : 2,4-D : 1 mg/l + 200 mg/l PVP * Milieu M'2 : 2,4-D : 1 mg/l.
- Milieu M3 : 2,4-D : 10 mg/l + charbon actif : 1g/l.
- Milieu M4 : 2,4-D : 100 mg/l + IPA: 3 mg/l + charbon actif: 3g/l.

Chapitre II: La culture *in vitro* des plantes

- Milieu M5 : Picloram 12.5 mg/l+ charbon actif. : 3 g/l La stérilisation des milieux s'effectue par autoclavage à 120 °C pendant 20 minutes à 1 bar après ajustement du pH à 5,8.

Tableau 04 : Composition de la solution de Murashige et Skoog (Souidi, 2005).

	Concentration (en mg/l)
Macro elements	
MgSO ₄ , 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
KNO ₃	1900
CaCl ₂ , 2H ₂ O	440
NH ₄ NO ₃	1650
Oligoéléments	
MnSO ₄ , 4H ₂ O	22,300
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	8,600
H ₃ BO ₃	6,200
KI	0,830
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	0,350
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ , 6H ₂ O	0,025
Fer chélaté	
FeSO ₄ , 7H ₂ O	27,84
Na ₂ EDTA	37,24
Vitamines et acides amines	
Acide nicotinique	0,5
Pyridoxine-HCl	0,5
Thiamine HCl	0,1
Glycinees amines	2
Myo-inositol	100

II.6.Facteurs influencé sur la culture *in vitro* :

Les facteurs influant sur la régénération *in vitro* peuvent être répartis en deux groupes :

II.6.1. Les facteurs internes (liés à la plante) :

Concerne d'une part le génotype, la nature et l'âge ontogénique de l'explant et d'autre part l'état physiologique de la plante mère sur laquelle l'explant a été prélevé.

II.6.2. Les facteurs externes :

Les facteurs externes qui englobent les milieux de cultures (notamment leur composition en régulateurs de croissance et les sucres) et les conditions de la mise en culture.

II.6.2.1. Effet de l'explant :

Un des atouts majeurs de la culture *in vitro* est de montrer que les cals pouvaient produire soit des embryons somatiques soit des bourgeons et dont le développement permet de régénérer des plantes conformes à la plante mère. Pratiquement n'importe quel organe (bourgeon, racine, feuille, anthère, etc.) ou fragment d'organe (explant), prélevé sur celle-ci peut être cultivé isolément sur milieu nutritif synthétique mais le choix de celui-ci est d'une importance primordiale. On retiendra cependant que la réponse *in vitro* est sous la dépendance de nombreux facteurs (Saadi et Hamdani, 2007).

II.6.2.2. L'âge physiologique et ontogénique de l'organe :

Généralement dans les cultures *in vitro* les explants les plus jeunes (embryons immatures, jeunes feuilles, méristèmes etc.) sont les plus privilégiés. Leur état juvénile favorise plus de possibilités de régénération (Vidalis et al., 1989). Souvent, ce sont les tissus provenant d'embryons qui expriment le plus souvent d'une manière nette et reproductible, l'aptitude à la régénération, suivis de loin par les cotylédons. (Saadi et Hamdani, 2007).

II.6.2.3. L'époque de prélèvement :

Ce problème se pose surtout pour les espèces vivaces, on peut distinguer un stade de vie active et un stade de vie ralenti de la plante ce qui conduit les explants à développer des réactions différentes en culture *in vitro*. Cette différence peut être expliquée par la modification des équilibres internes des régulateurs de croissance (auxines, cytokinines, gibbérelline ...) lors des différentes saisons. (Vidalis et al., 1989).

II.6.2.4. La taille de l'explant :

Plus la taille est importante et plus les équilibres endogènes sont déterminants et les conditions extérieures seront influentes. La taille choisie variera selon la nature de l'explant. Si l'explant est de nature reproducteur, le prélèvement devrait engendrer l'organe en sa totalité (un nœud, un apex, ou un bourgeon entier), mais dans le cas d'un tissu différencié (feuilles, tige, racines, inflorescence...) des fragments de 5 à 10 mm suffiront (Vidalis et al., 1989 ; Saadi et Hamdani, 2007). D'une manière générale, il existe des tissus privilégiés appelés «tissus cibles» qui répondent à un stimulus inducteur qui orientera son programme

morphogénétique vers une voie particulière de développement, contrairement à certains tissus récalcitrants aux manipulations *in vitro*, dues essentiellement à un manque de compétence cellulaire. (Webb et al., 1989 ; Wheeler et al., 1985).

II.6.2.5.Effet du génotype :

La plupart des plantes montrent une régénération génotypique spécifique liée à l'espèce. A l'intérieur d'une même espèce un génotype donne des bourgeons tandis qu'un autre ne peut fournir que des embryons (Boxus, 1995), Cependant plusieurs auteurs mentionnent que seulement certains génotypes paraissent posséder la capacité d'induire une embryogenèse somatique. Cette capacité chez beaucoup d'espèces semble être génotypiquement contrôlée. (Isac et al., 1994 ; Vidalis et al., 1985 ., Caraglio, 2012).

II.6.2.6.Effet du milieu de culture :

Les six macroéléments nécessaires à la croissance (N, P, S, K, Mg, Ca) sont absorbés sous forme d'ions (Margara, 1984), Le potassium occupe la première position, il existe dans le milieu sous forme de nitrate ou chlorure avec une concentration de 20 à 30 Mm, Il occupe la position du maître cation en relation d'une part avec la préférence de l'absorption qui lui vaut sa grande fusibilité complète d'une sélectivité avec exclusion de d'autre part Na.

Deuxièmement le phosphore est absorbé sous la forme ortho phosphorique (H_2PO_4 ou HPO_4), les besoins de la croissance dans les cultures des tissus varient de 1-30 Mm, il augmente la densité des racines. Pour le calcium, les besoins en cet élément varient de 1-3 Mm, le rôle du calcium, est le maintien de la structure cellulaire. Le magnésium à un rôle de construction de la molécule de chlorophylle et finalement les composés azotiques qui représentent la principale source d'alimentation azotée (Yves, 1984).

II.6.2.6.a.Le saccharose :

Pour la culture *in vitro* le saccharose constitue une source d'énergie car la plante n'est pas encore arrivée à satisfaire ses besoins énergétiques, on peut dans un cas particulier utiliser d'autres sources tels le galactose et le lactose (Teoule, 1999).

II.6.2.6.b.Les vitamines :

En culture *in vitro* certaines vitamines sont favorables aux croissances des tissus, parmi les principales, citons : la thiamine, l'acide nicotinique, la pyridoxine leurs concentrations sont fréquemment de l'ordre de 1mg/l (Teoule, 1999).

II.6.2.6.c.Les régulateurs de croissances :

Les régulateurs naturels de croissances des végétaux, appelés souvent hormones de croissance, se répartissent actuellement en cinq groupes : auxines, cytokinines gibbérellines, acides abscissiques, éthylènes selon (Margara, 1984) Les facteurs de croissance suivants les

auxines (AIA, AIB, AIP) et les cytokinines (la kinétine et la benzylaménopurine) sont des régulateurs de croissance indispensables au bon démarrage et à l'entretien de ces cultures de tissus végétaux *in vitro*. D'ailleurs, les prédictions de Gottlieb Haberlandt sur la potentialité des cellules végétales n'ont pu recevoir une confirmation qu'à partir de 1939, après la découverte des facteurs de croissance et notamment des auxines (**Tourte et al., 2005**) ces dernières participent à la croissance en augmentant le nombre de cellules et provoquent l'élongation cellulaire. Les cytokinines y sont impliquées en augmentant le nombre de cellules ; ceci fait en fonction de l'équilibre auxines /cytokinines qui détermine l'organogénèse.

II.6.3.Facteurs d'incubation :

II.6.3.1.La photopériode :

La lumière est un facteur déterminant pour la culture *in vitro* des plantes, La durée de La photopériode affecte La prolifération, La vigueur et La croissance des cals (**Lepoivre, 2003**). De façon générale le début de croissance nécessite une faible intensité lumineuse (500 à 1000 lux) avec 12 à 16 heures de photopériode (**Bommineni et Jauhar, 2003**), Pour la rhizogénèse l'auxine endogène produite par les plantes pourrait être plus active lorsqu'elles séjournent à l'obscurité, L'obscurité limite l'oxydation des composés phénoliques et optimise l'expression des phytohormones Ceci impliquerait que l'obscurité réduirait la dominance apicale de la pousse primaire et favoriserait par conséquent la prolifération du tissu méristématique (**Kone et al., 2010**).

II.6.3.2.La température :

La température de beaucoup de chambres de culture est constante de l'ordre de 22° à 25°C (**Kone et al., 2010**).

II.7.Les avantages et Les inconvénients de la culture *in vitro* :

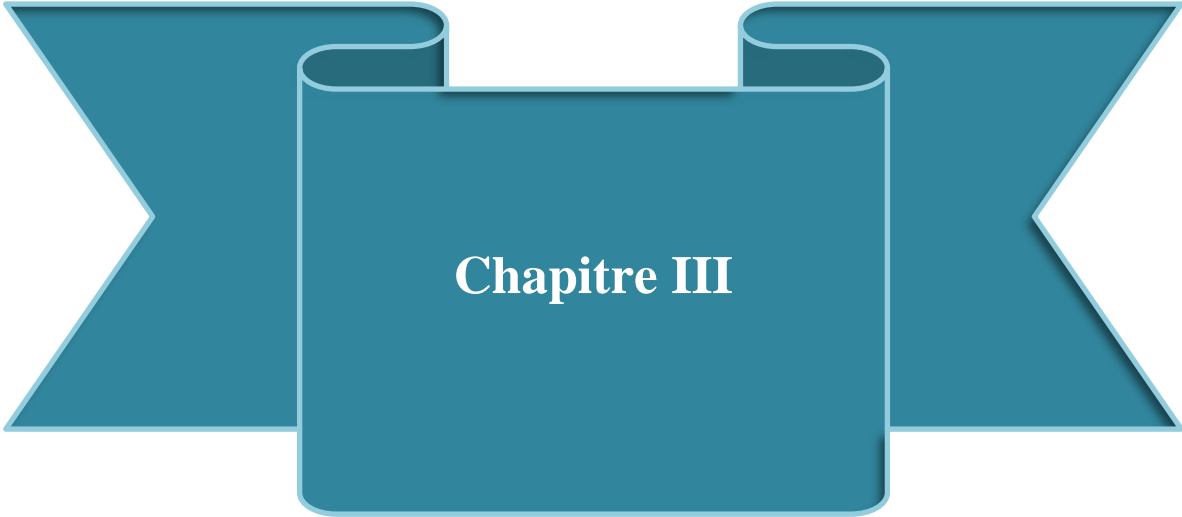
II.7.1.Les avantages :

- Sauvegarde et Conservation des variétés anciennes et menacées de disparition, C'est un moyen de sauvegarder la diversité des espèces sauvages et les espèces rares ou difficiles à multiplier naturellement (peu de graines ou de rejets) par la création des banques de gènes.
- Assainissement des plants par la culture du méristème De nombreuses variétés de plantes horticoles et maraîchères de grand intérêt anciennes ou nouvelles ont été sauvées de la menace de disparition par des virus en utilisant la culture de méristèmes.
- La multiplication massive et rapide des plants.

- La facilité de leur transport d'une région à l'autre ou d'un pays à l'autre.
- Accélération de la création variétale par haplo-diploïdisation.
- Sélection et amélioration de la tolérance à certains stress biotiques et abiotiques.
- Reboisements....
- L'amélioration des conditions sanitaires par les techniques de cultures *in vitro* souvent associées à la réduction des contaminations.

II.7.2.Les inconvénients :

- Problème des contaminations endogènes ou exogènes brunissement vitrification.
- L'Exigence de main d'œuvre qualifiée.
- Culture *in vitro* difficile à mettre en place (asepsie)...
- Récalcitrante de certaines espèces. (Aabouch, 2018).



Chapitre III

III.1.Par organogenèse :

La technique d'organogenèse est la base fondamentale de la multiplication végétative, laquelle s'appuie toujours sur la formation de nouveaux méristèmes. En partant d'un explant, elle aboutit à la néoformation d'un nouvel individu par l'élaboration de bourgeons apicaux (caulogenèse) et de racines (rhizogenèse). Ces bourgeons néoformés *in-vitro* peuvent apparaître sur l'explant initial (organogenèse directe) ou sur un cal (organogenèse indirecte). Les bourgeons peuvent être considérés comme un cas particulier de bourgeons adventifs. Ils sont induits sur n'importe quel type d'organe ou de tissu y compris sur ceux qui ne les produisent pas dans les conditions naturelles. En outre, cette technique présente un maximum de conformité et d'homogénéité génétique des vitro plants produits puisque les bourgeons sont directement initiés à partir du tissu mère. (Abahmane, 2011).

III.1.1.Les étapes d'organogenèse :

III.1.1.a.Initiation des bourgeons :

Selon (Bougerfaoui, 1998), qui a réalisé les recherches par son laboratoire, montré que la réaction des tissus cultivés *in vitro* dépend de l'interaction de plusieurs facteurs dont les principaux sont l'état physiologique du rejet, le génotype et la composition du milieu de culture. En effet, une grande hétérogénéité de réponse a été observée chez les tissus des différents variétés et clones cultivés *in vitro*. Celle-ci concerne le type de réaction (vitesse de croissance, vitrification, brunissement,...), la durée nécessaire à l'initiation des bourgeons et le pourcentage d'initiation de bourgeons. En effet, certains génotypes ou groupes de génotypes manifestent parfois des comportements particuliers tels que la vitrification (Bougerfaoui, 1998), le brunissement, le verdissement des tissus ou l'émission précoce de racines. En conséquence, la réussite de l'initiation de bourgeons nécessite l'optimisation du milieu, ou de la séquence des milieux de culture, en fonction du génotype et le choix de rejets réactifs et indemnes de contaminations endogènes. Parmi les différents milieux que nous avons testés, ceux dont les équilibres hormonaux sont en faveur des auxines, ont donné les meilleurs résultats quant à l'initiation de bourgeons. Cependant, chez certains génotypes, les milieux auxiniques peuvent parfois engendrer l'initiation précoce de racines et l'apparition de cals hyper hydriques (Anjarne et Zaid, 1993). Des ajustements du milieu en fonction du comportement manifesté par les tissus s'avèrent donc nécessaires pour orienter les explants vers l'initiation de bourgeons. Par contre, les milieux avec des équilibres hormonaux en faveur des cytokinines ont plus tendance à favoriser le brunissement et la vitrification des tissus.

Dans ce cadre, plusieurs études nous ont permis de maîtriser l'initiation de bourgeons chez plusieurs génotypes. (Anjarne et al., 2005).

III.1.1.b.Multiplication des souches :

La multiplication des bourgeons dépend du génotype à multiplier et de la composition du milieu de culture. En effet, il a été noté que certains génotypes présentent un coefficient de multiplication élevé, alors que d'autres présentent des problèmes variables. Les recherches entamées dans ce cadre ont permis de développer des milieux de multiplication adaptés à la plupart des variétés et clones de palmier dattier. Ces milieux permettent d'obtenir des coefficients de multiplication de l'ordre de 2 à 4, chez des cultivars tels que Boufeggous, Aguellid, Sayer Laayalat, clone Najda et clone JDFZ. Le problème de la chute de la capacité de régénération des bourgeons observé chez certains génotypes (Mejhool, Bouskri, clone 3002, Bouzeggagh) constitue un handicap pour la multiplication de ces cultivars. Ce phénomène, variable selon les génotypes, se manifeste soit par un verdissement des tissus souvent accompagné d'un allongement des bourgeons soit par une émission précoce de racines (Anjarne, 1998). Les recherches sur ce phénomène ont permis de développer certains milieux de culture qui améliorent la capacité de régénération de bourgeons ainsi que le taux de multiplication, notamment chez la variété Aziza Bouzid. (Anjarne et al., 2005).

III.1.1.c.Elongation et enracinement des bourgeons :

Chez la plupart des génotypes, l'élongation des bourgeons se produit facilement sur le milieu de multiplication. Toutefois, certains génotypes présentent des feuilles fines et chétives et évoluent difficilement en plantules acclimatables. Dans ce cas, des traitements supplémentaires sont nécessaires pour améliorer l'élongation et l'individualisation des bourgeons en plantules. L'apparition de racines a lieu souvent vers la fin de la phase de multiplication. Cependant, chez certains génotypes, le transfert des bourgeons sur un milieu d'enracinement s'avère nécessaire et permet d'améliorer la qualité et la vigueur des plantules produites. (Anjarne et al., 2005).

III.1.1.d.Acclimatation des plantules :

La réussite de l'acclimatation des plantules dépend principalement de la maîtrise d'un certain nombre de facteurs, à savoir les conditions de l'environnement lors de l'acclimatation, le substrat utilisé, le stade de la plantule à acclimater, l'irrigation, la fertilisation et la protection phytosanitaire durant les premières semaines de l'acclimatation. Les études relatives à cette

étape ont montré que seules les plantules vigoureuses, ayant 2 à 3 feuilles, un collet bien développé et un système racinaire ramifié, repotées sur un substrat drainant et incubées pendant les premières semaines sous une humidité relative élevée garantissent un pourcentage de reprise de l'ordre de 70 à 85 %. Le pourcentage de reprise en acclimatation est aussi variable selon les génotypes et peut atteindre 90% lorsque les plantules régénérées sont très vigoureuses. Toutefois, chez les génotypes qui présentent des problèmes d'élongation ou d'étiollement, les plantules régénérées sont souvent chétives et leur taux de reprise en serre est très faible. (Anjarne et al., 2005).

III.2.Par embryogenèse somatique :

L'embryogenèse somatique (encore appelée embryogenèse asexuée) consiste à obtenir des embryons non zygotiques à partir de différents tissus de la plante mère. Ces embryons peuvent se développer à partir de cellules somatiques ou germinales placées sur des milieux de culture appropriés. De tels embryons se développent directement à partir de cellules méristématiques des explants ou indirectement à partir de cals. Les embryons somatiques produits sont, en principe, génétiquement identiques et capables de produire des clones à partir de génotypes donnés. Les explants utilisés, comme pour la technique d'organogenèse, proviennent de la base de jeunes feuilles de cœurs de rejets, des inflorescences...etc. (El Hadrami et Baaziz, 1995 ; Loutfi, 1999).

III.2.1.Les étapes d'embryogenèse somatique :

Chez le palmier dattier, l'embryogenèse somatique peut être induite sur des tissus inflorescentiels et végétatifs juvéniles ainsi que ceux issus des vitro cultures sur des milieux additionnés de 2,4-D à 1 mg/l .Toutefois, les tissus embryogènes ne peuvent pas être confectionnés avant plusieurs mois depuis la première mise en culture .L'étude exhaustive effectuée sur les masses proembryogènes (Figure 10) induites en vue de définir les paramètres conduisant à l'établissement de suspensions embryogènes (Figure 11) a montré que le choix de la lignée cellulaire et l'utilisation de milieux de culture liquides dilués renfermant du 2,4-D à 1 mg/l et du charbon actif à 0,3 g/l sont les deux facteurs clés assurant leur multiplication rapide et par conséquent la production de plusieurs centaines d'embryons somatiques chez la quasi-totalité des variétés étudiées.(Fki et al., 2003).

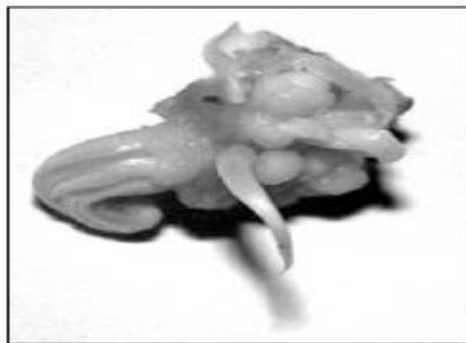


Figure 10 : Différenciation de proembryons sur des tissus issus de culture *in vitro* (X1). (Fki et al., 2003).



Figure 11 : Aspect d'une suspension embryogène de la variété DN (Fki et al., 2003).

Certaines lignées cellulaires, en dépit de l'emploi de ce milieu liquide standard, ne parviennent pas à différencier des embryons somatiques vigoureux. Cette inaptitude revient en particulier au faible niveau d'accumulation de certaines substances de réserve. Afin d'apporter des solutions aux difficultés de certains embryons somatiques à germer ou à régénérer des plantes de meilleure vigueur, nous avons utilisé l'ABA (1,2 et 4 mg/l) et le saccharose (30, 60 et 120 g/l) en fin de phase de différenciation. Il ressort de cette étude que l'ABA à 4 mg/l et le saccharose à 60 g/l améliorent le degré de maturation des embryons grâce à l'épaississement de leur feuille cotylédonaire (Figure 12). (Fki et al., 2003).

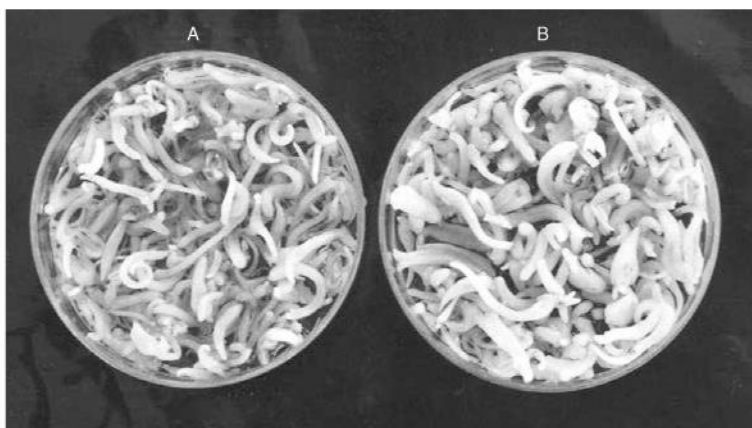


Figure 12 : Effet de l'ABA et du saccharose sur la morphologie des embryons somatiques différenciés (1x). (Fki et al., 2003) :

A: témoins.

B : traités par de l'ABA (4 mg/l) et du saccharose (60 g/là).

Au plan biochimique, une maturation conduite en présence de doses croissantes d'ABA allant jusqu'à 4 mg/l se traduit par une accumulation protéique de plus en plus importante (tableau 05, tableau 06). En revanche, le saccharose ne semble pas induire le même type d'action. Ce composé semble intervenir dans l'accumulation d'autres types de réserves probablement de nature glucidique. L'importance de l'ABA et de l'osmoticum en matière de maturation a été signalée par plusieurs auteurs (Attree et al., 1991 ; Gupta et al., 1994). Tel est le cas des embryons somatiques de conifères maturés en présence de fortes concentrations d'ABA et d'une pression osmotique élevée qui manifestent un degré de maturation assez satisfaisant (Roberts, 1991).(Fki et al., 2003).

Tableau 05 : Effet de différentes concentrations d'ABA sur la teneur en protéines solubles chez des embryons somatiques de palmier dattier. (Fki et al., 2003).

	Concentration de l'ABA			
	ABA : 0 mg/l	ABA : 1 mg/l	ABA : 2 mg/l	ABA : 4 mg/l
Teneur en protéines solubles (mg/gMF)	3,1 ± 0,2	4 ± 0,3	5 ± 0,3	6 ± 0,4

Tableau 06 : Effet de différentes concentrations en saccharose sur la teneur en protéines solubles chez des embryons somatiques de palmier dattier. (Fki et al., 2003).

	Concentration de saccharose		
	S : 30 g/l	S : 60 g/l	S : 120 g/l
Teneur en protéines solubles (mg/gMF)	3,2 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,3

L'ensemble des résultats obtenus permettrait, sans doute, de progresser rapidement dans le contrôle de la maturation des embryons somatiques du palmier dattier. Ainsi, une meilleure compréhension de l'ensemble des corrélations embryon zygotique-albumen devrait permettre de définir des milieux de culture plus adéquats assurant une bonne maturation des embryons somatiques. (Fki et al., 2003).

III.3.L'objectif :

Le choix de la technique à utiliser pour la multiplication à grande échelle du palmier dattier est d'une importance capitale. (Anjarne et al., 2005).

L'utilisation de la micro propagation *in vitro* réside dans la production de *in vitro* plants conformes aux variétés et clones demandés par les agriculteurs. (Anjarne et al., 2005).

L'objectif de notre travail de recherche est le développement de méthodes de multiplication végétative *in vitro* peu coûteuses pouvant être appliquées à l'échelle industrielle et être intégrées dans les programmes d'amélioration et de préservation de cette espèce. Aussi, dans cette étude, nous avons accordé une importance particulière aux contraintes de la micro propagation du dattier. (Fki et al., 2003).

III.4.La Comparaison entre les deux méthodes de micro propagation :

III.4.1.Par organogenèse :

III.4.1.1.Les Avantages :

- Propagation fidèle (conformité).
- sauvegarde des cultivars en voie de disparition
- Rapide par rapport à la méthode traditionnelle

- une pérennité de la culture.

III.4.1.2. Les Inconvénients :

- Une certaine difficulté autre méthodes. -Limitation du matériel utilisé (les bourgeons).
- Récalcitrante certaines variétés.

III.4.1.3. Avenir :

- L'organogénèse est la technique de propagation d'avenir du fait qu'elle présente un intérêt génétique important (la conformité).

III.4.2. Par embryogénèse somatique :

III.4.2.1. Les Avantages :

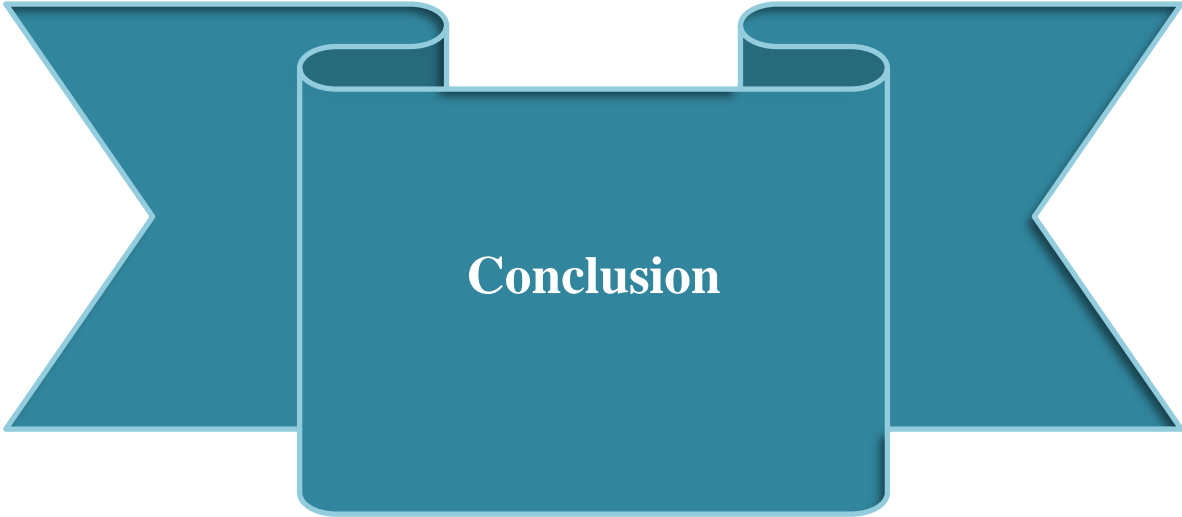
- La plus rapide des méthodes d'*in vitro*. -diversité du matériel végétal utilisé (Bourgeons, foliole, fragments des feuilles, embryons zygotiques).
- Elle permet la multiplication en masse. -Homogénéité des embryons somatiques (milieu liquide agité).
- Elle est essentielle pour l'hybridation, la sélection et la cryoconservation.

III.4.2.2. Les Inconvénients :

- L'embryogénèse somatique présente le grand risque d'avoir des variations somatiques clonales et des maturations.
- Passage par plusieurs étapes, ce qui nécessite une mise au point de chaque étape et donc une maîtrise de chaque étape.

III.4.2.3. Avenir :

- L'embryogénèse somatique et en particulier les suspensions cellulaires ont à nos jours des grands intérêts. En effet, elles permettent d'avoir des embryons de bonne qualité servant comme des semences artificielles de qualité.
- L'embryogénèse somatique est la technique d'avenir pour ceux qui s'intéressent à la diversité génétique. (Fredj, 2007).



Conclusion

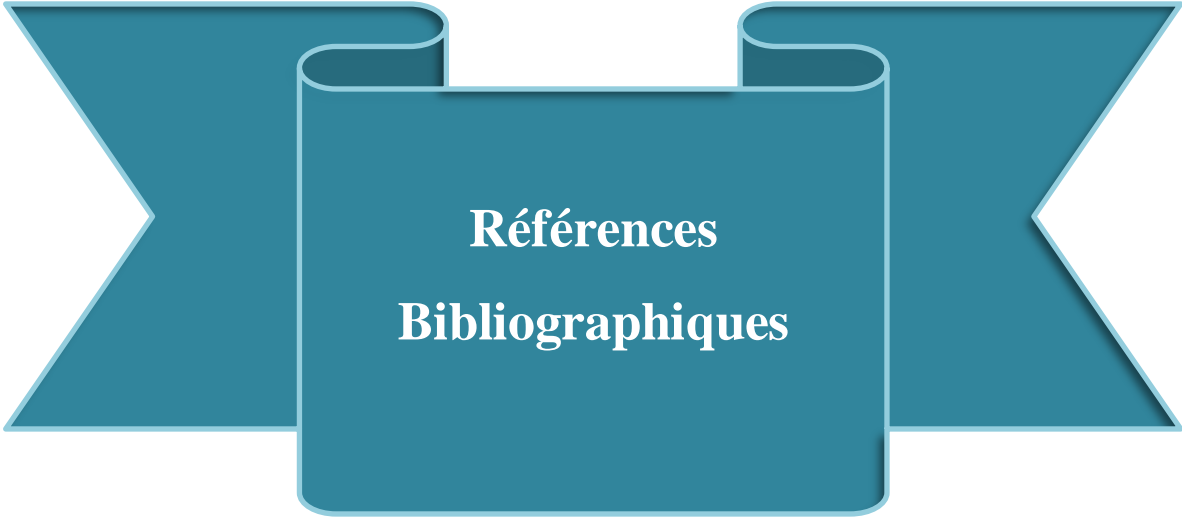
Conclusion

La phoeniciculture ou la culture du palmier dattier est surtout localisée au sud du bassin méditerranéen avec une extension marquée vers les pays du Golfe. Elle a connu beaucoup de progrès au fil des années ; cependant, il reste encore de nombreux problèmes à résoudre et des améliorations à apporter aussi bien pour le palmier dattier que pour sa culture. (**Ben Abdallah, 1990**).

De nombreux travaux ont été entrepris dans le domaine de la multiplication végétative par culture *in-vitro*. Ils ont abouti à l'heure actuelle à la mise au point de techniques, permettant l'obtention rapide de vitro plants en grand nombre, ce qui a donné lieu aux travaux de plusieurs chercheurs (**Tisserat, 1984; Benbadis, 1992; Omar et al., 1992**).

Le choix de la technique à utiliser pour la multiplication à grande échelle du palmier dattier est d'une importance capitale (**ANJARNE et al., 1995**).

La multiplication *in vitro* constitue la voie la plus prometteuse pour la reconstitution rapide des palmeraies nationales. A l'échelle internationale, l'organogenèse et l'embryogenèse somatiques ont les principales techniques utilisées pour la micro propagation du palmier dattier. (**ANJARNE et al., 2005**).



**Références
Bibliographiques**

Références Bibliographiques

- ✓ **Anonyme, (1996).** Kitchen culture.
- ✓ **Abahmane, L., (2011) a.** Date palm micro propagation via organogenesis. In: S.M. Jain, J.M.Al-Khayri and D.V. Johnson (Eds), pp.69-90. Date Palm Biotechnology, Springer, Dordrecht.
- ✓ **Anjarne, M., Bougerfaoui, M., & Abahmane, L., (2005).** Les techniques de micropropagation du palmier dattier: Expérience de l'INRA-Maroc. In Proceedings of the International Symposium 'Développement Agricole Durable des Systèmes Oasiens (pp. 86-93).
- ✓ **Anjarne, M., et Zaid, A., (1993).** Effet de certains équilibres hormonaux sur l'enracinement précoce des tissus du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Al Awamia N° 82, spécial palmier dattier, pp: 197-210.
- ✓ **Anjarne, M., Bougerfaoui, M., Cheikh, R., et Aitchitt, M., (1995).** Production de vitro plants de palmier dattier par la technique d'organogenèse *in vitro*: l'expérience marocaine. Proceeding duséminaire international sur la culture du palmier dattier dans les oasis des pays méditerranéens, Elche (Espagne), Avril 25-27, 1995
- ✓ **Anjarne, M., (1998).** Effect of early rooting on tissue culture of date palm. Proceeding de la conférence sur le palmier dattier organisé par le "Réseau de Recherche et Développement du Palmier dattier", ACSAD, Marrakech, Maroc, 16 -18 février 1998, pp: 237-243.
- ✓ **Attree, S., M., Mooore, D., Awhney, V., K., Fowke, L., C., (1991) –** Enhanced maturation and desiccation tolerance of white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos: effects of of nonplasmolyzing water stress and abscisic acid. Ann. Bot., 68: 519-525.
- ✓ **ABDALLAH, A., B., (1990).** La phoeniculture. Toutain G. (ed.) Les systèmes agricoles oasiens, Montpellier: CIHEAM. Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens, (11).
- ✓ **BENBADIS, A., K., (1992).** Coconut and date palm. In HAMMERSCHLAG F. A. et LITZ R. E., 1992. Biotechnology of Perennial Fruit Crops. CAB International, Wallingford, pp: 383-400.
- ✓ **Ben Aïssa, I., Bouarfa, S., Perrier, A., (2008).** Utilisation de la mesure thermique du flux de sève pour l'évaluation de la transpiration d'un palmier dattier "Economies d'eau en systèmes irrigués au Maghreb, Mostaganem : Algérie (2008).

- ✓ **Boxus, P., (1995).** multiplication végétative: micro propagation et embryogenèse somatique dans les biotechnologies Végétales BV 93, Ed CNED.AUPELFUREF 191p.
- ✓ **BARROW, S., C., (1998).** A monograph of *Phoenix* L. (*Palmae: Coryphoideae*). Kew Bull. 53, part 3: 513-575.
- ✓ **BARROW, S., C., (1999).** Systematic studies in *Phoenix* L. (*Palmae: Coryphoideae*). In HENDERSON A. and BORCHSENIUS F., 1999. Evolution, variation and classification of palms. HENDERSON and BORCHSENIUS eds., Memoirs of New York Botanical garden 83:215-223.
- ✓ **Bougerfaoui, M., (1998).** Vitrification and its effect on tissue culture of date palm. Proceeding de la conférence sur le palmier dattier organisé par le "Réseau de Recherche et Développement du Palmier dattier" ACSAD, Marrakech, Maroc, 16 -18 février 1998, pp: 230-236.
- ✓ **Bouguedoura, N., (1979).** Contribution à la connaissance du palmier dattier. *Phoenix dactylifera* l. j, étude des productions l'axillaires. Thèse de fin de 3ème cycle en science biologique, Université Montpellier II, France.
- ✓ **Bouguedoura, N., Bennaceur, M., & Benkhalifa, A., (2010).** Le palmier dattier en Algérie: situation, contraintes et apports de la recherche. Biotechnologies du palmier dattier. IRD Éditions, Paris, 16-22.
- ✓ **Belguedj, M., (2002).** Etude du marché des dattes 1 : Evaluation du secteur de dattes en Algérie.
- ✓ **Benmihoub, S., (2008).** Influence des milieux de culture sur la croissance des extrémités cotylédonaire et des embryons du dattier (*Phoenix dactylifera* L.) var Deglet- Nour cultivés *in-vitro* Thèse de diplôme d'études supérieure en sciences de la nature. U.M.M.T.O. 77p.
- ✓ **Cornu, D., Boulay, M., (1986).** La multiplication végétative: techniques horticoles et culture *in vitro*. Revue Forestière Française.
- ✓ **Caraglio, Y., (2012).** L'organogenèse. UMR Cirad/Inra de Modélisation des plantes (AMAP).Programme modélisation des plantes du Ciradamis.
- ✓ **Casselle, A., C., (1987)** *In vitro* induction of free-virus potatoes by chemotherapy .In biotechnology and forestry Pp: 40-50.
- ✓ **Collet, G., F., LE, C., L., (1988).** Micro propagation de porte-greffes de pommier et de poirie Enracinement *in vitro* de *Pyrus malus* L. (M25, 26, 27, MM106, M9 type jork) et *Cydonia oblonga* Mill. (A) .Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic .Vol 20(2) :131-138.

- ✓ **CHEVALIER A., (1952).** Recherches sur les *Phoenix* africains. Rev. Int. Bot. Appl. Agri Trop 32: 205-236, 355-356c.
- ✓ **CORNER, E., J., H., (1966).** The natural history of palms. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, 393 p.
- ✓ **Dalvesco, L., et P., M., Guerra, (2001).** The effectiveness of nitrogen sources in Feijoa somatic embryogenesis. Plant Cell Tissue and Organ Culture 64:19 – 25.
- ✓ **Dodeman, V., L., Ducreux, G., et M., Kreis, (1997).** Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis. Journal of Experimental Botany 48N 313: 1493 -1509.
- ✓ **Dalvesco, L., et P., M., Guerra, (2001).** The effectiveness of nitrogen sources in Feijoa somatic embryogenesis. Plant Cell Tissue and Organ Culture 64:19 – 25.
- ✓ **Djerbi, H., (1991)** - Biologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) : Voie de propagation des clones résistants au Bayoud et de haute qualité. Ciheam-option Méditerranéennes n014, pp : 31-38.
- ✓ **Djerbi, M., (1994).** Le précis de la phoeniciculture .Ed. FAO. Rome. 192 P.
- ✓ **El Houmaizi, M., A., (2002).** Modélisation de l'architecture du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) et application à la simulation du bilan radiatif en oasis. Thèse de fin d'étude du troisième cycle, Université Cadi-Ayyad, Marrakech au Maroc.
- ✓ **El Hadrami, I., and M., Baaziz,** "Somatic embryogenesis and analysis of peroxidases in *Phoenix dactylifera* L." Biologia plantarum 37.2 (1995): 197-203.
- ✓ **Fredj, H., (2007).** La multiplication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par les techniques de culture *in vitro* (Doctoral dissertation).
- ✓ **Fredo, B., T., Z., LES PALMIERS DATTIERS «Phoenix dactylifera» À TOLIARA: ÉTUDE DE LA FILIÈRE, UTILISATION ET DIVERSITÉ VARIÉTALE.**
- ✓ **GOVAERTS, R., et DRANSFIELD, J., (2005).** World checklist of palms. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew, 223 p.
- ✓ **Gupta, P., K., Timmis, R., Timmis, K., Carlson, W., Grob, J., Welty, E., (1994)** – « Plantlet regeneration via somatic embryogenesis in Douglas-fir ». In: Biological Sciences Symposium Proceeding, Minneapolis: 35-39.
- ✓ **HIMOUR, S.,** Etude comparée de régénération de plants par voie végétative en culture *in vitro*. Option: Biodiversité et Production Végétale.
- ✓ **Haberlandt, G., (2008).** la culture *in vitro* de tissus et de cellules végétales. In : histoire et d'épistémologie des sciences de la vie. n0 2. Volume 15. pages 197 – 217.

- ✓ **Isac, V., Popescu, A., N., et M., Coman, (1994).** Studies on plant regeneration from tissue-derived callus in *Fragaria X ananassa* Duch. In: Schmidts H. et M Kellerhals. Progress in temperate fruit breeding. Kluwer Academic Publishers. 395-398 p.
- ✓ **KHELAFI, H., (2012).** Propagation *in vitro* de 07 cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) (Doctoral dissertation).
- ✓ **Kone, T., Kone, M., Kone, D., Kouakou, T., H., Traore, S., et Y., J., Kouadio, (2010).** Effet de la photopériode et des vitamines sur la micro propagation du bananier plantain (*Musa AAB*) à partir de rejets écaillés de rang. Journal of Applied Biosciences 26: 1675 – 1686.
- ✓ **LAMINE, I., (2015).** Optimisation de l’organogénèse chez la variété Mejhoul : Phase d’élargissement et d’acclimatation .option : Master en Sciences et Technique.
- ✓ **LÊ, C., L., Thomas, D., Nowbuth, L., (2002).** Conservation des pommes de terre *in vitro* et caractérisation des variétés cultivées en suisse .suisse Agric 34(3):133-136 s .Thèse Doct ès Sci ; Univ Paris RSud, Orsay, 280 p.
- ✓ **Lotfi., Fki, W., Kiaa, N., Sahnoun, Neila., Bouaziz, R., Masmoudi, et Noureddine., Drira,** Production de vitro plants de palmier dattier à l’échelle pilote : Schémas de production et traitement des contraintes. p. 195-214. Biotechnologies du palmier dattier.
- ✓ **Loutfi., K, (1999).** Organogenesis et embryogenèse somatique à partir des tissus floraux du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) cultivés *in vitro*. Aspects histologiques et caryologie des vitro plants. Thèse de Doctorat, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia- Marrakech.
- ✓ **Margara, J., (1984).** Base de la multiplication végétatives .Les méristèmes et l’organogénèse. Institut National de la recherche Agronomique(INRA), 262p.
- ✓ **MOORE, H., E., (1963).** An annotated check list of cultivated palms. *Principes*, 7 (4):119-184.
- ✓ **MUNIER, P., (1973).** Le palmier-dattier. Editions Maisonneuve et Larose, Coll. Techniques Agricoles et Productions Tropicales. Paris. 221 p.
- ✓ **Munier, P., (1973)-** Le palmier dattier. Ed – Maisonneuve-Edward Arnold, London. 217p.
- ✓ **Munier, P., (1981).** Origine de la culture du palmier dattier et sa propagation an Afrique. Notes historiques sur les principales palmerais africaines, fruits. Vol 36. No 9. PP 531-556.

- ✓ **Nozeran, R., Bancilhon, L., (1972).** Les cultures *in vitro* en tant que technique pour l'approche de problèmes posés par l'amélioration des plantes .In Ann. Amélioration .Plantes 22(2), pp 167-185. Institut National de la recherche Agronomique.
- ✓ **Novello, C., (2005).** Maîtrise IUP SIAL. Université Paris. XII - IUP SIA Julien TAP.
- ✓ **OZENDA, P., (2004).** Flore et végétation du Sahara (3e édition). Editions CNRS, Paris, 662 p.
- ✓ **OMAR, M., S., HAMEED, M., K., et AL-RAWI M, S., (1992).** Micro propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). In BAJAJ Y. P. S., 1992. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Protoplast and Genetic Engineering. Springer-Verlag, Berlin, Vol. 18: 471-492.
- ✓ **PERRIER DE LA BÂTHIE, H., (1933).** Biogéographie des palmiers de la région malgache. [Http:// www.bibdigital.rjb.csic.es](http://www.bibdigital.rjb.csic.es), séances 25 p 385.
- ✓ **QUEZEL, R., et SANTA, S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions CNRS, Paris, tome 2, 1170 p.
- ✓ **Roberts, D., R., (1991)** – Abscisic acid and manitol promote early development, maturation and storage protein accumulation in somatic embryos of interior spruce. *Physiologia Plantarum*, 83: 247-254.
- ✓ **SAADI, Aet., F., HAMDANI, (2007).** Régénération *in vitro* du *Scorpiurus muricatus* ssp. *subvillosus* via la caulogénèse. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, Volume 11 (2007) numéro 3.
- ✓ **Souidi, H., (2005).** Contribution au clonage de variétés récalcitrantes en multiplication de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par embryogénèse.
- ✓ **Staritsky, G., et G., A., M., Van Hassel, (1980).** The synchronized mass propagation of *Coffea canephora in vitro*. Proc. 9. Int. Science Colloquium on Coffea, Paris, 597–602.
- ✓ **Smith, R., H., Bhaskaran, S., Miller, F., R., (1985).** Screening for drought tolerance in Sorghum activity: localization using cell culture. *In Vitro Cell .Dev. Biol.* 21 :541-545.
- ✓ **Sibi, M., (1981).** Hérité de variantes épi géniques obtenus par culture des tissus *in vitro* chez les végétaux supérieur.
- ✓ **Téoulé, E., (1999).** Biotechnologie et Amélioration des plantes in Biotechnologie Seriban REdT TEC &DOC p 565-589.
- ✓ **Tourte, Y., Bordonneau, M., henry, M., (2005).** Le monde des végétaux, organization, physiology et génétique .édition Dunod .p 384.

- ✓ **TISSERAT, B., (1984).** Date palm. In SHARP W. R., EVANS D. A., AMMIRATO P. V. et YAMADA Y., 1984. Handbook of Plant Cell Culture. Macmillan Publishing Company, New York, Vol. 2: 505-545.
- ✓ **Unnikrisham, S., K., Mehta, A., R., et P., N., Bhatt, (1990).** Abscisic acid induced high frequency embryogenesis from *Sapindus trifoliatus* leaves: 89-94. *Acta Horticulturae* 280. *In vitro* culture and Horticultural breeding.
- ✓ **UHL, N., W., et DRANSFIELD, J., (1987).** Genera palmarum: A classification of palms based on the work of HAROLD E. and MOORE J., Hortorium and International Palm Society, Allen Press, Lawrence, Kansas.
- ✓ **Vidalis, H., Augé, R., Beauchesne, G., et al., (1989).** La culture *in vitro* et ses applications horticoles. Lavoisier, Tec et Doc (ed). 7- 24.
- ✓ **Webb, K., J., Osifo, O., E., et G., G., Henshaw, (1983).** Shoot regeneration from leaflets and discs of six cultivars of potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*). *Plant Sci. Lett.* 30, 33-47.26.
- ✓ **Wheeler, V., A., Evans, N., E., Foulger, D., Webb, K., J., Karp, A., Franklin, J., et S., W., J., Bright, (1985).** Shoot formation from explant cultures of fourteen potato cultivars and studies of the cytology and morphology of regenerated plants. *Ann. Bot.* 55, 309-312.
- ✓ **Yakoub.Boughlal, S., Semadi, A., Hamlat, M., Louerguioui, A., (2000).** Rhizogénèse des micros boutures de l'Olivier (*Olea europaea* L., var Chemlal) .*Sciences & Technologie* : 14 ; 129-133.
- ✓ **Yakoub.Bougdal, S., (1984).** Etude des radiations rouges sur des méristèmes et sur des embryons en culture *in-vitro* chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Approches quantitatives. D.E.A. Université Pierre et marie curie (Paris IV).
- ✓ **Yakoub.Bougdal, S., (1987).** Etude des inductions morphogénétiques chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) var Deglet-Nour en culture *in-vitro*. Analyses cytophotométriques et autoradio graphiques. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI.
- ✓ **Yves, C., (1984).** La culture sans sol .in science et vie, hors-série (la nouvelle botanique) mars1984, 146:68-75.
- ✓ **ZOHARY, D., HOPF, M., (2000).** Domestication of Plants in the Old World. Oxford University press, New York, third edition. 185 p.
- ✓ **Zaid, A., (2002).** Date palm Research and Development Unit. Plant Tissue Culture Laboratory. United Emirates University, 81908, Al Ain, United Arab Emirates.