

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE
LA NATURE ET DE LA VIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : BIOLOGIE
OPTION : BIOTECHNOLOGIE
VEGETALE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par:

MENASRI Zahra et KHODJA Rayhana

Intitulé

Les étapes de la culture *in vitro* du palmier
dattier
(*Phoenix dactylifera* L.).

Soutenu devant le jury composé de:

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

Année universitaire : 2020/2021.



Remerciements

Tout d'abord je remercie Allah le tout-puissant, qu'il nous a offert la force et la patience à fin de réaliser ce modeste travail.

Nous voudrions remercier, **Dr. GUETTOUCHI AHLEM** maitre de conférences B, qui m'a accordé de diriger ce travail, merci pour votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre patience, ayant permis la réalisation sans difficulté du présent travail. Nous sommes honorés de vous exprimer mes sincères reconnaissances et mes respectueuses grâces.

Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté d'examiner notre travail:

Dr. BELKASSAM Abdelwahab

pour avoir accepté d'être président de ce jury, ainsi que pour les conseils qu'il m'apporte.

Dr. HADJI Abbas

pour avoir accepté de juger ce travail et de participer au jury

Nous remercions très chaleureusement à CHARIFI MOHAMED, pour ses conseils et ses encouragements.

Enfin tout ceux qui ont contribués de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

A mon très cher père ABBAS

qui est toujours dans mes poncés
et je souhaite il serra au paradis.

A la personne qui est la source de succès dans ma vie,
avec ses prières, ses encouragements et sa tendresse,
ma très chère mère NOURET EL KIFAH.

A mes chères sœurs "FATIHA", "RANIA"

A mes chères frères "ABDULLAH", "MOUHAMED", "KHALED", "SALAH", "HAMZA"

A mes neveux "NINA", "SIRINE", "TASNIME".

A tous la famille MENASRI, A mon Grand-Père MASSOUD que dieu prolonge sa vie,

A ma Grand-Mère DAKHOUCHE ZAHRA dieu aie pitié d'elle.

Aussi à tous **mes amis** surtout "Asia, Sara, chaima, rayhana. "

A mon encadreur Dr. GUETTOUCHI AHLEM.

A mon assistant et support SIMO.

A tous ceux m'ont aidé de près ou de loin.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

A mon Mari MAZOUZ HAMZA et sa famille.

A mon fils MOUSSA.

Mes parents KHODJA ABDELHAMID et BOUATHMANE MIRA.

A mes sœurs "FELLA", "BOCHRA"

A mes frères "BILAL", "CHAMES EDDINE", "AYMEN".

A tous ma famille.

Rayhana

The image features a background of vibrant green palm fronds, some in shades of lime and others in a slightly darker green, arranged in a dense, overlapping pattern. A thick white rectangular border frames the central area. In the center of this white space, the word "Sommaire" is written in a large, bold, black serif font.

Sommaire

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Introduction Générale	01
Chapitre I: La culture <i>in vitro</i> des plantes	
I.1.Historique	03
I.2.Culture <i>in vitro</i>	03
I.2.1.La totipotence	04
I.3.Les catégories de la culture <i>in vitro</i>	05
I.3.1.La catégorie de la culture <i>in vitro</i> conforme	05
I.3.2.La catégorie de la culture <i>in vitro</i> Non conforme	05
I.4.Techniques de culture <i>in vitro</i> et leurs principales applications.....	05
I.5.Le milieu de culture.....	06
I.5.1.Les compositions des milieux de culture.....	06
I.5.1.1.Les éléments minéraux	06
I.5.1.1.1.Les macroéléments	06
I.5.1.1.2.Les micros éléments	06
I.5.1.2.Les éléments organiques	06
I.5.1.2.1.Les sucres	06
I.5.1.2.2.Les vitamines	07
I.5.1.2.3.Les acides aminés	07
I.5.1.3.Les régulateurs de croissances	07
I.6.Formes des milieux de culture	08
I.6.1.Milieu de culture solide	08
I.6.2.Milieu de culture liquide	08
I.6.3.Milieu à double phases	08
I.7.Les milieux de cultures couramment utilisés	09
I.7.1.Milieu de Murashige et Skoog (MS 1962)	09
I.7.2.Milieu de White (WH),1963	10

I.7.3.Milieu de Gamborg, et al. (B5), (1976)	10
I.8.Les étapes de préparation de milieu de culture	11
I.9.Objectif de culture tissulaire	12
I.10.Avantages de la culture <i>in vitro</i>	12
I.11.Les problèmes liés à la culture <i>in vitro</i>	12
I.11.1.La vitrification	12
I.11.2.La perte de caractères intéressants	12
I.11.3.Problèmes inhérents à la technique	12
I.11.3.1.L'asepsie	12
I.11.3.2.L'acclimatation	13
I.11.4.L'apparition d'anomalies génétiques	13
I.11.5.L'exigence de main d'œuvre qualifiée	13

Chapitre II: Généralité sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.).

II.1.Origine et historique	14
II.2.Taxonomie du palmier dattier	14
II.3.Description Morphologique du palmier dattier	15
II.3.1.Le système racinaire	16
II.3.2.Organes végétatifs aériens	17
II.3.2.1.Le tronc	17
II.3.2.2.La palme (feuille)	18
II.3.3.Organes reproducteurs	19
II.3.3.1.Les inflorescences (spadices)	19
II.3.3.2.Les fleurs	20
II.3.3.2.1.La fleur femelle	21
II.3.3.2.2.La fleur mâle	21
II.3.3.3.Les fruits (les dattes)	22
II.4.Cycle végétatif du palmier dattier	22
II.5.Modes de multiplication du palmier dattier	23
II.5.1.Les techniques conventionnelles de multiplication du palmier dattier.....	23
II.5.1.1.Semis des graines	23
II.5.1.2.La multiplication par rejet	24

II.5.2.La multiplication par culture <i>in vitro</i>	24
II.6.Importance de palmier dattier	25

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

III.1.Milieu de culture	26
III.2.Les étapes de culture <i>in vitro</i> de palmier dattier	26
III.2.1.La multiplication <i>in vitro</i> du palmier dattier par la technique d'organogenèse	27
III.2.1.1.Les différentes étapes d'organogenèse	27
III.1.2.1.1.L'initiation des tissus organogènes	27
III.1.2.1.2.Multiplication des bourgeons de pousses	27
III.1.2.1.3.Allongement et enracinement des pousses	27
III.1.2.1.4.Acclimatation de la plantule	27
III.2.1.2.Avantages de la multiplication <i>in vitro</i> par organogenèse	28
III.2.1.3.Inconvénients de la multiplication <i>in vitro</i> par organogenèse.....	28
III.2.2.La multiplication <i>in vitro</i> de palmier dattier par l'embryogenèse somatique	29
III.2.2.1.Facteurs affectant l'embryogenèse somatique	29
III.2.2.1.1.Nature de l'explant	29
III.2.2.1.2.Milieu de culture	30
III.2.2.2.Les différentes étapes d'embryogenèse somatique indirecte.....	31
III.2.2.2.1.Etape d'induction de cals embryonnaires et formation d'embryons somatiques	31
III.2.2.2.2.Etape de développement, maturation et germination d'embryons somatiques.....	32
III.2.2.2.3.Etape d'acclimatation des plantules	33
III.2.2.3.Les différentes étapes d'embryogenèse somatique directe	34
III.2.2.4.Avantages de la multiplication <i>in vitro</i> par l'embryogenèse somatique...	35
III.2.2.5.Inconvénients de la multiplication <i>in vitro</i> par l'embryogenèse somatique	35
III.3.Intérêt de culture <i>in vitro</i> de palmier dattier	37
III.4.Principaux problèmes et facteurs affectant la micro-propagation de palmier dattier	37
III.4.1.Brunissement des tissus	37

III.4.2.Hyperhydricité	37
III.4.3.Nature de l'explant	38
III.4.4.Effet de la lumière	38
III.5.Comparaison entre les deux méthodes de micro-propagation	38
Conclusion générale.....	40
Références bibliographiques.....	41



Résumé

Résumé :

Le palmier dattier est une plante d'intérêt écologique, économique et social majeur pour de nombreux pays. Le développement du palmier dattier connaît actuellement de grandes difficultés à cause de différentes maladies tels que el bayoud. La multiplication *in vitro* constitue la voie la plus prometteuse pour l'amélioration du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.).

A l'échelle internationale, l'organogenèse et l'embryogenèse somatique sont les principales techniques utilisées pour la micro-propagation du palmier dattier. La multiplication par organogenèse est basée sur l'utilisation des milieux de culture qui favorisent l'initiation et la multiplication des bourgeons à partir de méristèmes pré-existants à la base de jeunes feuilles du cœur du rejet, ces bourgeons évoluent en plantules complètes qui sont transférées au champ après leur acclimatation. Les observations recueillies et relatives aux premières fructifications ont confirmé la stabilité génétique des vitro-plants produits via la technique d'organogenèse *in vitro*.

La multiplication par embryogenèse somatique consiste en une régénération d'embryons somatiques à partir d'une cal initiée *in vitro*. La germination de ces embryons donne naissance à des plantules acclimatables. La production de vitro-plants via cette technique est relativement simple et rapide. Cependant, il a été noté que, chez plusieurs espèces végétales, le passage par la phase callogène peut engendrer des variations soma-clonales.

Mots clés: Culture *in vitro*. Palmier dattier. *Phoenix dactylifera* L. Organogenèse. Embryogenèse somatique. Vitro-planets.

Abstract:

The date palm is a plant of major ecological, economic and social interest for many countries. The development of the date palm is currently experiencing great difficulties because of various diseases such as el bayoud. *In vitro* propagation is the most promising method for the improvement of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.).

Internationally, organogenesis and somatic embryogenesis are the main techniques used for the micro-propagation of date palm. Multiplication by organogenesis is based on the use of culture media that promote the initiation and multiplication of buds from pre-existing meristems at the base of young leaves of the heart of the rejection; these buds evolve into complete plantlets which are transferred to the field after acclimatization. The observations collected and relating to the first fruiting confirmed the genetic stability of the vitro-plants produced by the technique of organogenesis *in vitro*.

Multiplication by somatic embryogenesis is the regeneration of somatic embryos from callus initiated *in vitro*. The germination of these embryos gives acclimatiable plants. The production of vitro-plants via this technique is relatively simple and fast. However, it has been noted that, in several plant species, the passage through the callogenic phase can generate soma-clonal variations.

Keywords: *In vitro* culture. Date palm. *Phoenix dactylifera* L. Organogenesis. Somatic embryogenesis. Vitro-plants.

ملخص :

يعتبر نخيل التمر من النباتات ذات الأهمية البيئية والاقتصادية والاجتماعية للعديد من البلدان. تواجه عملية تطوير نخيل التمر حاليًا صعوبات كبيرة بسبب أمراض مختلفة مثل البيوض. الزراعة النسيجية هي الطريق

الواعد لتحسين نخيل التمر. (*Phoenix dactylifera* L.)

على الصعيد الدولي ، يعتبر تشكّل الأعضاء والتشكّل الأجنة الجسدية من التقنيات الرئيسية المستخدمة في الزراعة النسيجية لنخيل التمر. يعتمد التكاثر عن طريق تشكّل الأعضاء على استخدام وسائط الزرع التي تعزز بدء وتكاثر البراعم من الإنبات الموجودة مسبقًا في قاعدة الأوراق الصغيرة لقلب الفسيلة ، وتتطور هذه البراعم إلى نباتات كاملة يتم نقلها إلى الحقل بعد التأقلم. أكدت الملاحظات التي تم جمعها والمتعلقة بالنمو الأولي ، الاستقرار الوراثي للنباتات المخبرية التي تنتجها تقنية تشكّل الأعضاء في المختبر.

التكاثر عن طريق التشكّل الجنيني الجسدي هو تجديد الأجنة الجسدية من الكالس الذي بدأ في المختبر. يؤدي إنبات هذه الأجنة إلى ظهور شتلات قابلة للتأقلم. يعتبر إنتاج النباتات المخبرية عبر هذه التقنية بسيطًا وسريعًا نسبيًا. ومع ذلك ، فقد لوحظ أنه في العديد من الأنواع النباتية ، يمكن أن يؤدي المرور عبر الطور الكالوجيني إلى التغير الوراثي في الصنف.

الكلمات المفتاحية: الزراعة المخبرية . نخيل التمر. (*Phoenix dactylifera* L.). تشكّل الأعضاء.

التشكّل الجنيني . نباتات المخبرية.



Abréviation

Abréviation

% :	Pourcentage
°C:	Degré Celsius
2,4-D:	Acide dichlorophénoxyacétique
CaCl₂,2H₂O:	Calcium chloride
CoCl₂,6H₂O:	Cobalt (ous) chloride
CuSO₄,5H₂O:	Cupric sulphate
FeSO₄,7H₂O:	Ferrous sulphate
H₃BO₃:	Boric acid
Kg:	Kilo gramme
KH₂PO₄:	Potassium dihydrogen orthophosphate
KI:	Potassium iodide
KNO₃:	Potassium nitrate
MgSO₄,7H₂O:	Magnesium sulfate
MnSO₄,4H₂O:	Manganese sulphate
MS:	Murashige and Skoog
Na₂ EDTA:	Sodium EDTA
Na₂MoO₄.2H₂O:	Sodium molybdate
NH₄⁺:	Ion ammonium
NH₄NO₃:	Ammonium nitrate
PRGs:	Plant growth regulators
ZnSO₄,7H₂O:	Zinc sulphate



Liste des Figures

Liste des Figures

Figure 1:	La culture <i>in vitro</i>	04
Figure 2:	Totipotence et culture cellulaire végétale.....	04
Figure 3:	Les vitamines les plus fréquemment utilisées.....	07
Figure 4:	Le rôle des phytohormones en culture <i>in vitro</i>	08
Figure 5:	Lab Murashige et Skoog Medium MS.....	10
Figure 6:	Schéma typique d'un palmier dattier adulte.....	16
Figure 7:	Les quatre types de racines.....	17
Figure 8:	Le tronc de palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera</i> L.).....	18
Figure 9:	Différents éléments d'une palme du dattier. (I) le point d'insertion visible de la palme sur le stipe, (C) insertion de la première épine, (e) épine, (L) insertion de la première foliole, (f) foliole, (A) point terminal de la nervure principale.....	19
Figure 10:	Inflorescence femelle du palmier dattier. (I) insertion visible de l'inflorescence au stipe, (b) bractée, (C) insertion des premiers épillets, (A) point apical de l'inflorescence, (s) partie stérile de l'épillet, (f) partie fertile de l'épillet et (e) fleur.....	20
Figure 11:	Inflorescences du palmier dattier. A: inflorescence femelle; B: inflorescence mâle; C: diagramme floral.....	20
Figure 12:	Schéma d'une fleur femelle.....	21
Figure 13:	Schéma d'une fleur male.....	22
Figure 14:	(a)Fruit du palmier dattier (datte) au stade tamar, (b) coupe longitudinale d'une datte et de son noyau.....	22
Figure 15:	Micro-propagation du palmier dattier <i>in vitro</i>	26

Liste des Figures

Figure 16:	Les étapes de la multiplication de palmier dattier par organogénèse sur milieu MS.....	28
Figure 17:	(a) Embryons somatiques en milieu liquide dépourvu de régulateurs de croissance après 1 mois de culture d'une suspension cellulaire ; (b) Développement des embryons somatiques sur milieu solide sans régulateurs de croissance après 2 mois de culture.....	31
Figure 18:	Les trois stades de développement d'un embryon somatique.....	32
Figure 19:	Différentes étapes de multiplication <i>in vitro</i> du palmier dattier en fonction des techniques. Après plantation, les jeunes plants doivent être protégés avec des palmes saines contre les facteurs climatiques agressifs (chaleur, vents violents chargés de sable, froid d'hiver,..).....	34

The background of the page is a repeating pattern of tropical palm leaves in various shades of green and yellow-green. A white rectangular border is centered on the page, framing the text.

Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 1: Techniques de culture <i>in vitro</i> et leurs principales applications.....	05
Tableau 2: Composition de la solution de Murashige et Skoog.....	10
Tableau 3: Systématique du palmier dattier.....	15
Tableau 4: Cycle végétatif du palmier dattier.....	23
Tableau 5: Les différents travaux réalisés sur la micro-propagation du palmier dattier.....	26
Tableau 6: Les travaux réalisés sur la multiplication <i>in vitro</i> par embryogenèse somatique du palmier dattier.....	35
Tableau 7: Les méthodes de culture <i>in vitro</i> du palmier dattier.....	39

The image features a repeating pattern of tropical palm leaves in various shades of green and yellow-green, set against a light background. A white rectangular border is centered on the page, framing the text.

Introduction

Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est considéré comme l'une des cultures les plus anciennes et les plus importantes en Asie du Sud-Ouest et en Afrique du Nord (**Chao et Krueger, 2007; Al-Harrasi et al., 2014; Hazzouri et al., 2015**).

Les palmiers ne sont pas seulement importants pour leur grande beauté ou leur potentiel ornemental, mais ils sont également considérés comme le deuxième groupe végétal le plus important économiquement, derrière les graminées, et constituent un groupe de plantes très nombreux: ils appartiennent à la famille des Arecaceae, et actuellement ils ont environ 220 genres différents, comprenant environ 3 000 espèces différentes. De nombreux peuples, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales, fondent leur économie domestique sur les palmiers, dont ils ne profitent pas seulement des fruits comestibles. Les palmiers sont une partie importante des jardins botaniques les plus prestigieux du monde (**Vives, 2018**).

La production du palmier dattier se fait traditionnellement par deux voies, soit par semis (propagation sexuée), soit par les rejets prélevés sur la plante-mère (propagation végétative). Les inconvénients majeurs de la propagation sexuée sont la perte chez les plantes produites des caractéristiques organoleptiques de la plante-mère et la production de 50% de mâles et de 50% de femelles. Les rejets, par contre, donnent toujours des plantes identiques à la plante-mère. Le nombre de rejets produits par palmier reste très limité, entre 20 et 30 rejets, et la majorité sont produites pendant le premier cycle de la vie de la plante (**Zaid & Arias-Jiménez, 2002**). **Asemota et al., (2007)** affirment que même certains génotypes de palmiers dattiers ne produisent jamais de descendance basale.

Le palmier dattier atteint son potentiel de production de fruits en moyenne à l'âge de 10 ans (**Zaid & Arias-Jiménez, 2002**). Sa productivité peut s'étaler jusqu'à l'âge de 50 ans. La quantité de rejets varie selon la variété et les conditions de culture.

Pour cette raison, la propagation par rejets reste insuffisante pour répondre à la demande, surtout en vue du rajeunissement et du renouvellement de certaines palmeraies, notamment celles détruites à cause des maladies comme le bayoud (la fusariose vasculaire). Par conséquent, les chercheurs se sont orientés vers la culture *in vitro* pour produire en grande quantité les variétés intéressantes.

La micro-propagation «*in vitro*» peut être importante pour résoudre cette limitation, car la multiplication et conservation des écotypes présentant des caractéristiques intéressantes pour l'amélioration génétique de cette espèce. La technique de la culture *in vitro* est de plus en plus employée pour assurer la propagation clonale des génotypes élités afin de satisfaire les besoins en agriculture et horticulture (**Haicour, 2002**). Généralement cette technique comprend Deux méthodes de régénération du palmier dattier par culture *in vitro* existent :

Introduction

l'organogénèse et l'embryogénèse somatique (Al-Khayri, 2007). L'organogénèse qui repose sur la capacité de bourgeonnement de plusieurs types des explants qui produit la technique *in vitro* de vitro-plants conformes aux variétés d'origine et embryogénèse somatique qui assure la multiplication à grande échelle de plantes d'élite aux caractéristiques uniformes, en utilisant espaces réduits et permettre l'échange de matériel sans aucun risque d'incidence de ravageurs ou maladies (Al-Khayri, 2001).

Ce travail comprend trois chapitres: nous présentons d'abord, après l'introduction générale, un premier chapitre sur la culture *in vitro* des plantes. Un deuxième chapitre présente une généralité sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Un troisième chapitre comportant les deux méthodes de la multiplication *in vitro* (organogénèse et embryogénèse somatique) et enfin, une conclusion résume les différents résultats obtenus.

The background of the slide is a repeating pattern of green palm fronds, some in shades of lime green and others in a slightly darker green, arranged in a dense, overlapping manner. A white rectangular border is centered on the slide, framing the text.

Chapitre I:
La culture *in vitro* des
plantes

I.1. Historique

La culture *in vitro* est par comparaison, une technique très récente puisqu'elle fut développée seulement au début du 19^{ème} siècle (**Jay-Allemand et Capelli, 1992**). Les premiers pas de culture *in vitro* sont dus à un Allemand Haberlandt en 1902. Il obtient ainsi sur un milieu KNOP amélioré, la survie durant plusieurs mois de petits amas cellulaires, mais il n'y a pas avant de la multiplication cellulaire (**Augé et al., 1989**).

Il fallut attendre 1922 et les travaux de Rablens pour voir apparaître une croissance chez les pointes et racine isolées sur milieu synthétique, mais la date qui marque réellement le début de la culture *in vitro* est 1932 avec les travaux de White aux USA sur la croissance indéfinie en milieu liquide de racine de tomates. Ce succès fut sans doute à l'origine du regain d'effort qui se portera sur la culture du tissu végétal.

En 1935, Gautheret cultive et multiplie des cellules cambiales de saule en introduisant des auxines dans le milieu qui malheureusement ne dépassèrent pas huit mois (**Morel, 1952 ; Scriban, 1988**). D'après les travaux de White aux USA en 1932 sur le tabac, Nobecourt en France sur la carotte, Limasset et Cornuet en 1949 qui publiaient leurs observations sur l'absence de virus dans les méristèmes de tabac virosé.

Morel et Martin, en 1952 mirent à profit ces observations et entreprirent de mettre en culture *in vitro* des méristèmes de Dahlia et de pomme de terre atteints de maladies à virus à partir de méristèmes, ils obtiennent *in vitro* des plantes entières qui furent remises en culture normale et révélèrent saines au contrôle (**Augé et al., 1989**).

I.2. La culture *in vitro*

La multiplication végétative *in vitro* est un mode de reproduction asexuée artificielle, elle comprend un ensemble de méthodes faisant intervenir, d'une part des éléments d'asepsie, et d'autre part la mise en place d'un environnement parfaitement contrôlé : milieux définis pour chaque espèce végétale, conditions optimales de température, photopériode, d'humidité, Ces méthodes s'appliquent autant à des fragments de plantes (tissus ou organes), qu'à des cellules isolées ou à des proto-plastes (**Dutuit et Gorenflot, 2008**). (Figure 1).

La culture *in vitro* doit toute son extension à la totipotence cellulaire des végétaux. (**Guyot et al., 2003**).

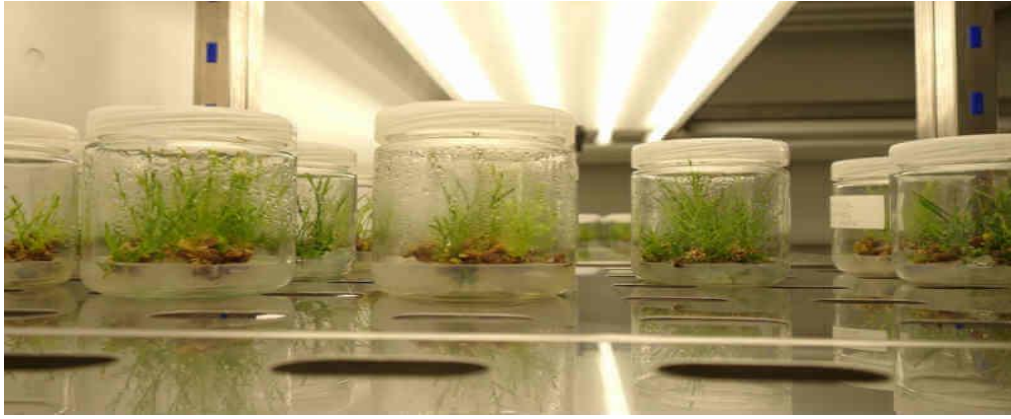


Figure 1: La culture *in vitro* (Tabti, 2010).

I.2.1. La totipotence

La théorie de la totipotence énoncée en 1902 par Haberlandt, été reprise et banalisée par Steward 1967.

Cette théorie se base sur le fait que toutes les informations génétiques et donc le programme de l'embryogenèse sont présentes dans le noyau de chaque cellule vivante (Norrel, 1973). (Figure 2).

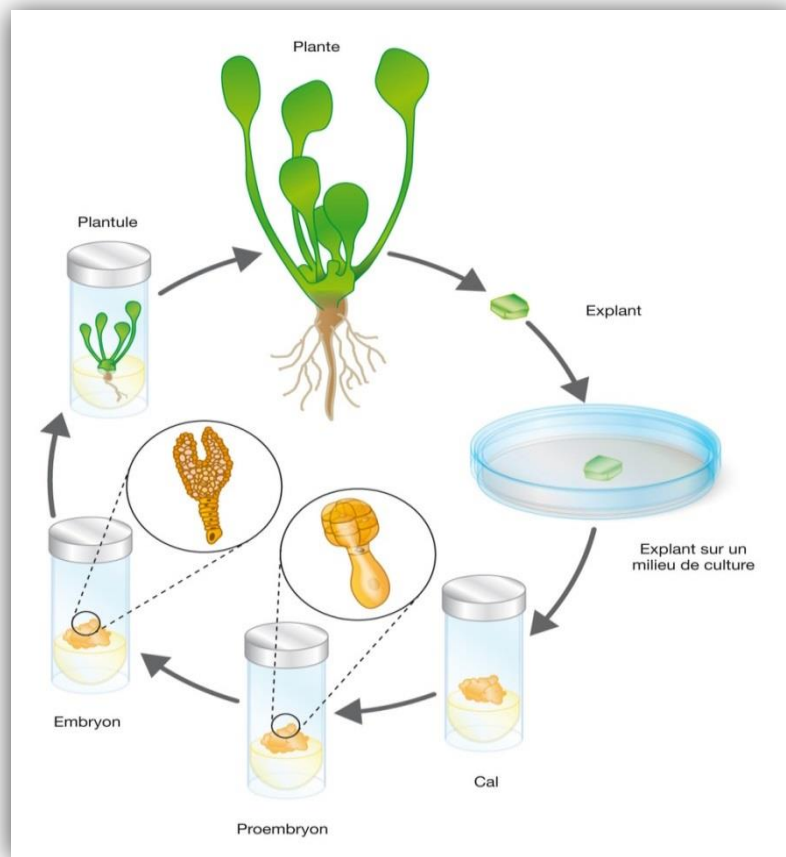


Figure 2: Totipotence et culture cellulaire végétale. (Antoine et al., 2019).

I.3. Les catégories de la culture *in vitro*

I.3.1. La catégorie de la culture *in vitro* conforme

Il s'agit d'un mode de multiplication conduisant à des individus pourvus de même stock d'information héréditaire que la plante dont ils sont issus (**Nozeran et Benalhon, 1972**). Selon **Rousselle et al., (1996)** la culture de méristèmes depuis les travaux de Morel et Mortin en 1952, ont permis de guérir les plantes atteintes de virus. La micro-propagation *in vitro* est plus ou moins utilisée dans la production de plantes conformes pour les premières générations de multiplications.

I.3.2. La catégorie de la culture *in vitro* non conforme

D'après **Nowbuth et al., (2005)** on appelle variation soma-clonale des modifications du phénotype des plantes qui apparaissent le plus souvent lors de la régénération de nouvelles plantules à partir de tissus déjà différenciés. De très nombreux travaux ont porté sur la variation soma-clonale et sont d'un éventuel intérêt pour la création variétale, le problème rencontré est souvent celui du crible puisque l'apparition d'un caractère utile est un événement rare et que l'on constate souvent l'apparition de caractères défavorables. Cette méthode peut être intéressante pour des caractères tel que la résistance aux parasites s'il est possible de faire un tri *in vitro*. A l'heure actuelle seule des résultats préliminaires ont été obtenus (**Bajaj, 1987**).

I.4. Techniques de la culture *in vitro* et leurs principales applications

Tableau 1: Techniques de culture *in vitro* et leurs principales applications (**Lachachi, 2010**).

Techniques de culture <i>in vitro</i>	Applications
Culture d'embryons zygotiques	Sauvegarde de génotypes.
Embryogenèse somatique	Production et transformation génétique.
Culture de nœuds et de bourgeons	Rajeunissement et micro-boutures.
Culture d'apex	Etat sanitaire et rajeunissement
Micro-greffage	Etat sanitaire et rajeunissement
Micro-propagation	Rajeunissement et production
Androgenèse et gynogenèse	Amélioration (haploïdes)
Culture de cellules isolées	Modèle d'études et de recherches
Culture de tissus, de cals	Substances pharmacologiques

I.5. Le milieu de culture

L'explant doit trouver dans le milieu de culture tout ce dont il a besoin pour survivre, se multiplier et éventuellement régénérer un nouvel individu, en fait, tout ce que la plante-mère peut fournir :

- par les racines : les éléments minéraux, l'eau ;
- par les feuilles et grâce à la photosynthèse : des sucres, des vitamines et des acides aminés ;
- les hormones, pour orienter la formation des organes (**Auge, 1989**).

I.5.1. Les compositions des milieux de culture

I.5.1.1. Les éléments 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**).

I.5.1.1.1. Les macroéléments

Interviennent en grande quantité. Il s'agit de 6 éléments présents à des concentrations élevées telles que l'azote (N), le calcium (Ca), le potassium (K), le soufre (S), le magnésium (Mg) et le phosphore (P) (**Auge, 1989**).

I.5.1.1.2. Les microéléments

Appelés parfois oligo-éléments, 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). À ces éléments sont associés les nickels (Ni), l'iode (I) et l'aluminium (Al). Le fer est apporté sous forme chélatée (Fe-EDTA) pour éviter sa précipitation (**Margara, 1989**).

I.5.1.2. Les éléments organiques

I.5.1.2.1. Les sucres

Dans le cas de tissus végétaux placés en culture *in vitro*, l'assimilation chlorophyllienne est nulle ou insuffisante pour assurer la survie et le développement de l'explant. Dès lors, on ajoute des sucres, le plus souvent du saccharose, aux milieux de culture pour fournir à l'explant une source de carbone. Dans la nature, les sucres sont photo-synthétisés à partir du gaz carbonique atmosphérique et de l'eau du sol (**Auge, 1989**).

I.5.1.2.2. Les 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, glycine (figure 3), la biotine, le pantothénate de calcium et le myoinositol autrement dit des vitamines de groupe B (Gautheret, 1977).

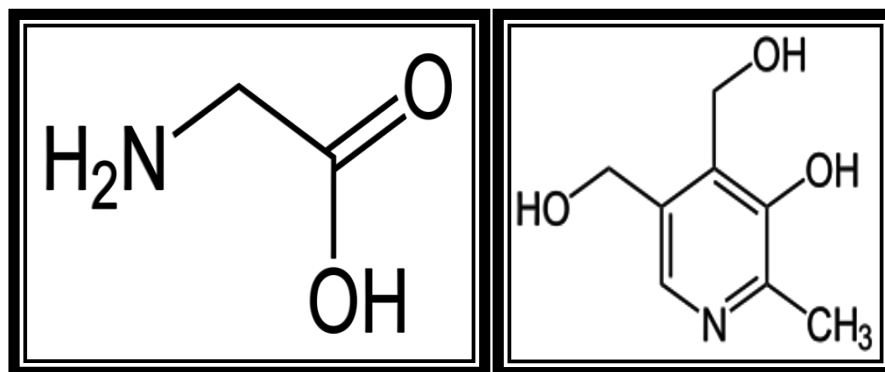


Figure 3: Les vitamines les plus fréquemment utilisées (Glycine, B6 ou pyridoxine) (<http://quimicaalkano.com/>).

I.5.1.2.3. Les acides aminés

Il a parfois été observé que l'apport d'acides aminés favorisait la prolifération (Auge, 1989).

I.5.1.3. Les régulateurs de croissance

Un régulateur de croissance, appelé également «phytohormone», est défini comme étant, une substance qui, suivant sa concentration absolue ou relative dans le milieu, peut supprimer, permettre ou modifier sous certaines conditions les processus de différenciation (Vidalis *et al.*, 1989).

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 les 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. (Figure 4) ; 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 (Fredj, 2007).

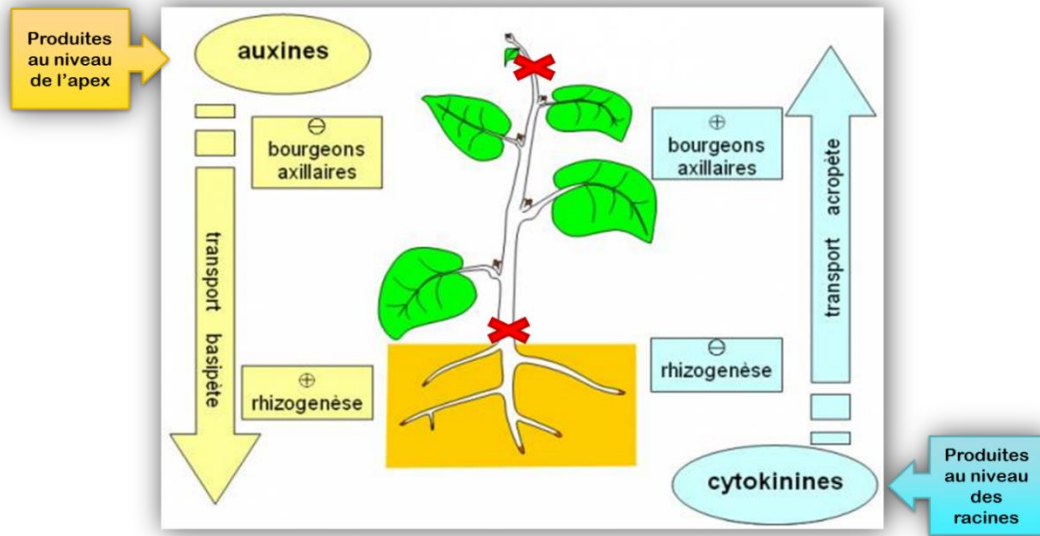


Figure 4: Le rôle des phytohormones en culture *in-vitro* (<http://labos.ulg.ac.be/>).

I.6. Formes des milieux de culture

I.6.1. Milieu de culture solide

Le milieu Solide est un milieu qui contient de la gélose, de la gélatine ou des biogels pour lui donner une texture gélifiée. De préférence, de la gélose pure telle que Difco-Nobel est utilisée. De la gélose est ajoutée à une concentration de 0,6 à 1% (poids volumique) ou de la gélatine à une concentration de 1% (poids volumique) (Sharhabach, 2009).

I.6.2. Milieu de culture liquide

Le milieu liquide est un environnement qui ne contient pas d'agar, il est préféré par de nombreux chercheurs en agriculture pratique plutôt qu'un environnement solide (Sharhabach, 2009).

I.6.3. Milieu à double phases

L'utilisation unique d'un milieu solide ou liquide en agriculture pratique peut montrer une vitreuse (vérification). Par conséquent, un environnement à double apparence est utilisé. Cet environnement est préparé en versant un environnement contenant de la gélose au fond du pot de plantation, puis en plantant le matériel végétal dessus, puis en versant un environnement liquide dessus qui contient les mêmes composants de l'environnement solide mais sans gélose. Ainsi, la matière végétale est située entre un environnement solide et un environnement liquide contenant les mêmes composants nutritionnels. De cette manière, il est facile de changer la partie liquide de l'environnement aussi souvent que nécessaire avec un autre environnement liquide similaire mais frais (Sharhabach, 2009).

I.7. Les milieux de cultures couramment utilisés

Une variété des milieux est utilisée dans les laboratoires de culture de tissus et de cellules végétales. Ces milieux diffèrent dans leurs composants, et parmi les plus célèbres de ces milieux:

I.7.1. Milieu de Murashige et Skoog (MS 1962)

Selon **Évans et al., (1981)**, dans 70% des cas, des milieux de culture de base de type de Murashige et Skoog (MS) ont été utilisés. Le milieu MS a été employé d'une manière générale pour tous les types de culture *in vitro*. Mais c'est essentiellement pour le déclenchement de l'organogenèse, en particulier pour la néoformation de bourgeons qu'il s'est révélé nettement supérieur à d'autres milieux (**Margara, 1989**). (Figure 5).

Le milieu de Murashige et Skoog est caractérisé principalement par une très forte teneur en sels minéraux, en particulier en potassium et par une concentration également élevée en azote (sous forme de nitrate et d'ammonium) dont 1/3 apporté sous forme réduite (Ion NH₄⁺) ; le rapport nitrate/ammonium, dans ce milieu est très favorable à l'induction de l'embryogenèse somatique (**Delvesco et Guerra, 2001**). (Tableau 2).

Tableau 2: Composition de la solution de Murashige et Skoog (**Cahier de références techniques, 1999**).

Les composant	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
Oligo-éléments	
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	0,250
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	37,3

Vitamines et acides amines	
Acide nicotinique	0,5
Pyridoxine-HCl	0,5
Thiamine HCl	0,1
Glycine amine	2
Sucres	
Myo-inositol	100
Sucrose	30000
Agar	10000



Figure 5: Lab Murashige et Skoog Medium MS (<https://ar.aliexpress.com/>).

I.7.2. Milieu de White (WH) ,1963

Ce milieu caractérise par contenir de très faibles concentrations d'azote et de potassium, ce qui n'est pas à la mesure de du bon croissant des callosités et des cellules végétales. Le chercheur devrait apporter des changements appropriés à la concentration de ces derniers deux éléments d'une manière qui convient au type de plante expérimentée.

I.7.3. Milieu de Gamborg, et *al.*, (B5), (1976)

Ce milieu a été utilisé pour la première fois dans la culture de cellules végétales de soja, et se caractérise par une forte proportion de nitrate seul et de potassium. Il est utilisé après avoir ajouté (2,4-D) à l'environnement afin de stimuler la prolifération rapide des cellules (Sharhabach, 2009).

I.8. Les étapes de préparation de milieu de culture

- Les macroéléments sont préparés séparément dans une solution d'un litre, sont appelés (stock 1).
- Les microéléments sont préparés individuellement dans une solution d'un litre, sont appelés (stock 2).
- Une solution contenant du Fer Chélate a été préparée seule dans 1 litre.

Un bécher en verre contenant 500 millilitres d'eau distillée est placé sur une surface chaude pour chauffer l'eau, puis la quantité requise de sucre y est ajoutée et la solution est soulevée directement du radiateur une fois que le sucre est placé.

- Les quantités requises des macroéléments, des microéléments et de fer chélaté sont ajoutées à la solution de sucre avec une bonne agitation, puis placées sur la surface chaude jusqu'à ébullition.
- Les acides aminés nécessaires sont ajoutés à la concentration spécifiée. Son type et sa quantité diffèrent selon le type de plante.
- Les vitamines sont ajoutées à l'environnement, en particulier la vitamine (B) en raison de son importance car elle n'est pas synthétisée dans les plantes, avec la concentration spécifiée de la plante expérimentée. Il peut ne pas être nécessaire d'ajouter des vitamines s'il s'agit de morceaux de papier, de cellules ou de chloroplastes car ils contiennent des vitamines auto-synthétisées.
- Les régulateurs de croissance (auxines et cytokinines) sont généralement ajoutés à des concentrations très faibles, en tenant compte de l'équilibre entre deux et de pourcentage d'addition en fonction de l'objectif de la culture. Gibberlin peut être ajouté à certains environnements si cela est important.
- L'acidité de milieu est ajustée à 7-7, à l'aide d'un appareil de pH-mètre, et des solutions diluées d'hydroxyde de sodium et d'acide chlorhydrique y sont utilisées.
- Ensuite, la gélose est ajoutée uniquement lors de la préparation de l'environnement solide. L'agar est mélangé avec de l'eau froide sous une bonne agitation, puis ajouté à l'environnement.
- Ensuite, le volume est complété par un litre d'eau distillée.
- Le milieu préparé est réparti sur les ustensiles de plantation (tubes .bocaux). La répartition régulière de milieu alimentaire et son adhésion à la paroi interne ou externe sont prises en compte (**Sharhabach, 2009**).

I.9. Objectif de culture tissulaire

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**).

I.10. Avantages de la culture *in vitro*

La production de *in vitro* plantes pouvait se substituer à la méthode de micro-bouturage avec des avantages suivants :

- la possibilité de conservation de ressources végétales et faire une banque de géotypes et réaliser ainsi des plantations hors la période de croissance (**Lé et al., 2002**);
- l'amélioration des conditions sanitaires par les techniques de cultures *in vitro* souvent associées à l'éradication des viroses (**Sibi, 1981**);
- la propagation végétative des espèces qui ne présentent pas ses capacités en conditions classiques (**Sibi, 1981**);
- la multiplication rapide, cette dernière est due à l'augmentation de diffusion cellulaire par ces techniques (**Smith et al., 1985 ; Collet et Lé, 1988**).

I.11. Les problèmes liés à la culture *in vitro*

I.11.1. La vitrification

Certains accidents, non prévisibles au départ, peuvent intervenir en cours de culture *in vitro*, comme des malformations dues à un déséquilibre hormonal.

I.11.2. La perte de caractères intéressants

La production répétée de grands nombres de plants uniformes (clones) peut entraîner la perte des gènes nécessaires, par exemple, à la résistance aux maladies nouvelles, il faut donc conserver les pieds mères et à certains moments, repasser par la reproduction sexuée.

I.11.3. Problèmes inhérents à la technique

I.11.3.1. L'asepsie

La technique de culture *in vitro* exige beaucoup de soin pour le maintien des cultures en condition d'asepsie. Lorsque l'on a des cultures infectées, cela peut provenir de différentes causes. Il peut s'agir d'un champignon (moisissure) ou d'une bactérie. Si l'infection part de la zone de contact entre les tissus et le milieu, ce sont les tissus eux - mêmes qui sont la source de l'infection. Si l'infection part d'un point quelconque du milieu, la source de l'infection peut être soit l'air, soit une mauvaise stérilisation du milieu, soit une infection de l'air ambiant par l'intermédiaire de l'eau de condensation au niveau du couvercle (**Auge et al., 1989**).

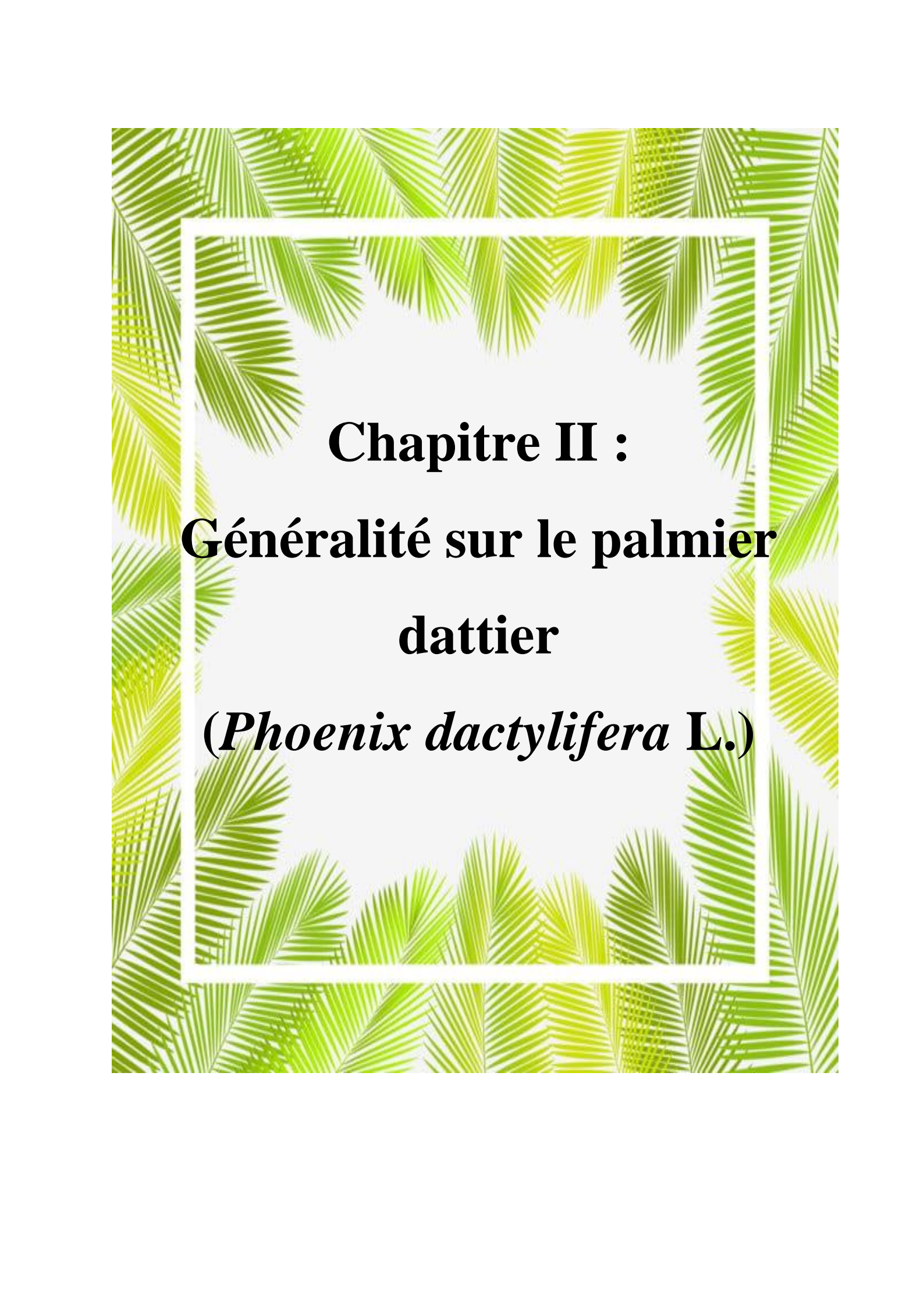
I.11.3.2. L'acclimatation

Le passage à des conditions de culture normales est parfois délicat. En effet, durant son séjour *in vitro*, la plante est à l'abri des stress.

I.11.4. L'apparition d'anomalies génétiques

Certains cas d'hyperfloraison, perte de sexualité chez certaines espèces, apparition d'organes anormaux : c'est la variation soma-clonale (**Lachachi, 2010**).

I.11.5. L'exigence de main-d'œuvre qualifiée (Belguendouz, 2011).



Chapitre II :
Généralité sur le palmier
dattier
(Phoenix dactylifera L.)

II.1. Origine et historique

C'est Linné, en 1734, qui a donné le nom de *Phoenix dactylifera* L. et a fait la description morphologique complète de cette espèce. Par ailleurs, plusieurs auteurs (**Munier, 1973 ; Lunde, 1978 ; Djerbi, 1994 ; Ferry, 1994 ; Peyron, 2000 ; Zaid et al., 2002**) ont décrit la signification de *Phoenix dactylifera* ; dans là l'étymologie, du mot "*Phœnix*" dérive de nom de dattier chez les Grecs, qui considéraient comme l'arbre des phéniciens et "*dactylifera*" vient de latin "*dactylus*" dérivant du grec dactylis, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit . Il est cultivé depuis l'Antiquité, mais jusqu'à présent, aucun vestige de *phoenix* n'a été trouvé dans les zones actuelles du palmier dattier.

Cependant, l'origine géographique précise du palmier dattier paraît très controversée, selon (**Munier, 1973 ; Pintaud et al., 2010**), est le résultat de l'hybridation de plusieurs types de *phoenix*. Bien que, plusieurs hypothèses aient été abordées sur son origine, mais toujours ont révélé que son origine fréquemment dans la Bible (se trouve à Babylone et datent de 4 000 ans avant.

Alors que selon **Newton et al., (2008)** dans la région du Golfe Persique. Depuis ce lieu d'origine, la culture du palmier dattier s'est étendue vers l'Est et vers l'Afrique orientale (15e siècle) et du nord (11e siècle). Dès le 20e siècle, il est introduit en Amérique par les conquêtes espagnoles et en Australie.

II.2. Taxonomie du palmier dattier

Le palmier dattier est connu en botanique sous le nom de *Phoenix dactylifera* L. (**Linné, 1753**). Le terme « *Phoenix* » dérive du palmier de la Grèce antique, à cette époque considérée comme « l'arbre des Phéniciens ». Concernant le terme « *dactylifera* », il s'agit en latin du doigt, ceci en raison de la forme de son fruit, la datte (**Munier, 1973**).

Le palmier dattier est une espèce dioïque très hétérozygote avec ($2n = 36$), (**Ataf et Mohammed, 1998**), aussi des cas d'aneuploïdie et de polyploïdie ont été rapportés par **Shabana et al. (2010)**.

Le genre *Phoenix* appartient à la famille des *Arecaceae* (anciennement, *Palmaceae*) (**Dransfield et al., 2008**) est unique de par son extrême diversité regroupant pas moins de 2800 espèces réparties en 226 genres (**Rival, 2010**).

La hiérarchie suivante a été adoptée par **Govaerts et Dransfield, (2005)**. (Tableau 3) :

Tableau 3: Systématique du palmier dattier (**Govaerts et Dransfield, 2005**).

Chapitre II : Généralité sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

Règne	Plantae
Sous règne	<i>Tracheobionta.</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta.</i>
Sous embranchement	<i>Magnoliophyta.</i>
Classe	<i>Monocots</i>
Sous classe	<i>Commelinids</i>
Ordre	<i>Arecales</i>
Famille	<i>Arecaceae.</i>
Sous famille	<i>Coryphoideae</i>
Genre	<i>Phoenix</i>
Espèce	<i>Phoenix dactylifera</i> L.

Le palmier dattier est une espèce appartenant au genre *Phoenix* qui comprend douze (12) espèces botaniques (Munier, 1973).

II.3. Description morphologique du palmier dattier

Le dattier est une espèce monocaulée constituée d'un stipe surmonté d'une couronne de palmes (Figure 6) à l'aisselle desquelles se mettent en place des inflorescences ramifiées. Il peut atteindre, voire dépasser 30 mètres de haut (Munier, 1973 ; Bouguedoura, 1991).

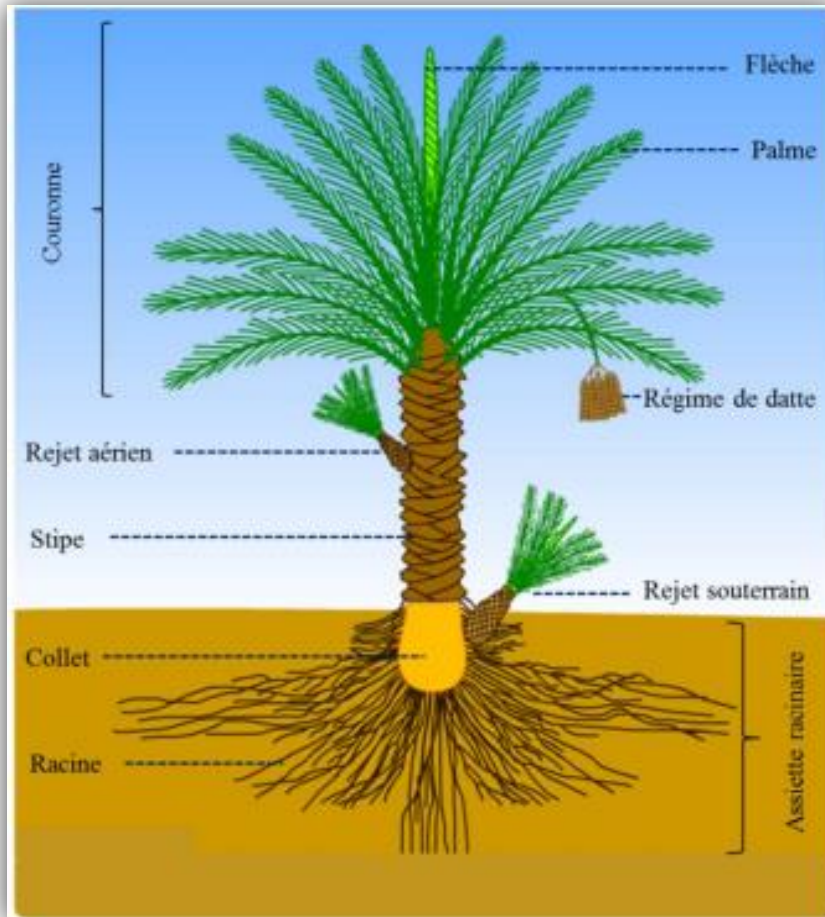


Figure 6: Schéma typique d'un palmier dattier adulte (Odysse, 2015).

II.3.1. Le système racinaire

Le système racinaire du palmier dattier est fasciculé, c'est-à-dire qu'il est disposé en faisceaux de racines, parfois ramifié avec beaucoup ou peu de radicelles, selon qu'elles se trouvent ou non au contact d'amendements humiques. (Peyron, 2000),

On distingue quatre types de racines. (Figure 7) :

- Racines respiratoires
- Racines de nutrition
- Racines d'absorption
- Racines d'absorption de profondeur

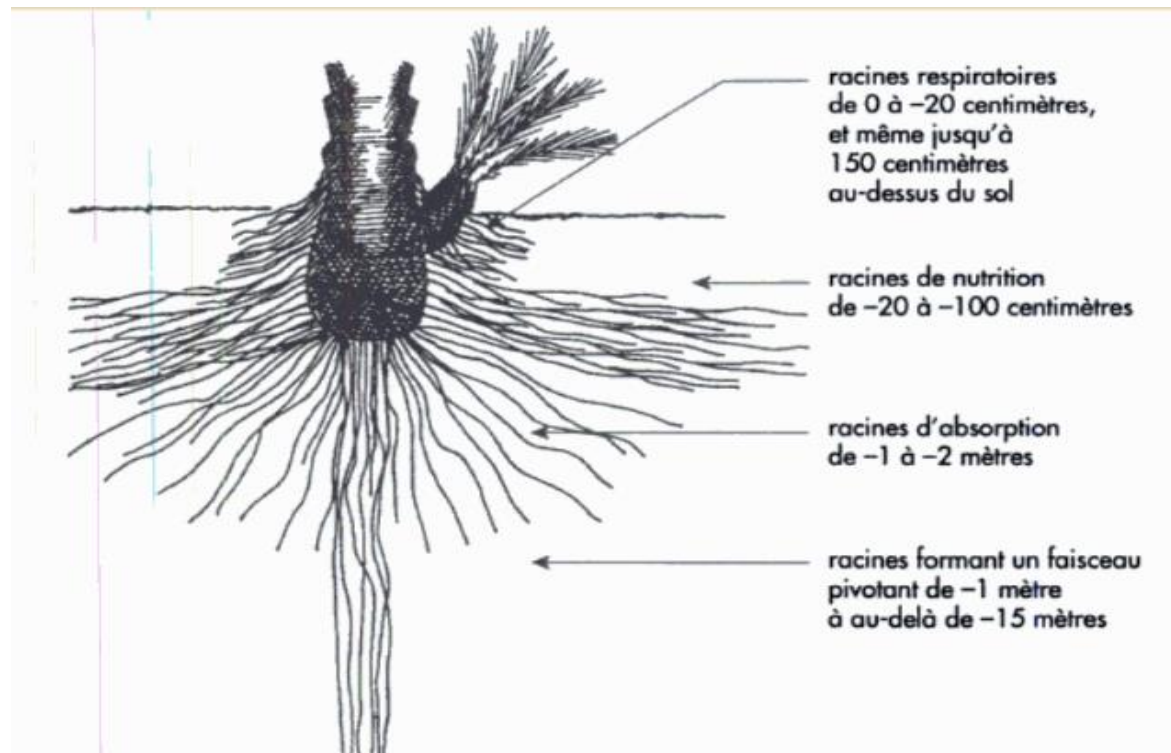


Figure 7: Les quatre types de racines (Peyron, 2000).

II.3.2. Organes végétatifs aériens

II.3.2.1. Le tronc

Le tronc qu'on appelle «Stipe», est cylindrique (Peyron, 2000). Cependant, certains cultivars peuvent avoir une forme tronconique (Djerbi, 1994) il a un port élancé, lignifié, et de couleur brune. (Figure 8).

Le développement du dattier se fait par un unique bourgeon terminal à croissance indéterminée (Barthélémy & Caraglio, 2007) qui ne se divise pas (sauf accident) ce qui implique que l'axe terminal ne se ramifie pas (Munier, 1973).



Figure 8: Le tronc de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) (Vives, 2018).

II.3.2.2. La palme (feuille)

La palme où « Djérid » est une feuille composée, pennée la base pétiolaire, ou Kornat, engaine partiellement le tronc et est en partie recouverte par le fibrillum, ou lif (Peyron, 2000).

L'ensemble des palmes d'un palmier dattier constitue la couronne au milieu de laquelle on aperçoit une série des jeunes palmes non encore complètement déployées, qui constituent les flèches la couronne d'un palmier adulte est en moyenne formée de 100 palmes actives, le renouvellement étant approximativement de 10 à 26 nouvelles palmes par an (Munier, 1973).

Les palmes peuvent atteindre une longueur de 6m (Guglielmo et al., 2000 in Khenfar, 2004) et vivent de 3 à 7 ans, selon les variétés et le mode de culture. Elles sont émises par le bourgeon terminal ou «Phyllo-phore» (Peyron, 2000).

Selon Marchal, (1984), on distingue :

- la couronne basale : avec les palmes âgées ;
- la couronne centrale : avec les palmes adultes ;
- les palmes du cœur : avec les palmes non ouvertes et les palmes n'ayant pas encore atteint leurs tailles définitives.

D'après Khanfar, (2004) une palme comporte. (Figure 9):

- une gaine pétiolaire, ou Karnaf, en gaine partiellement le tronc et est en partie recouverte par le fibrillum, ou lif ;
- rachis, ou pétiole: est semis cylindrique ;
- les épines, chouks, sont plus ou moins longues et dures ;

- des folioles (saafs): la finesse, la rigidité et la couleur des folioles diffèrent selon le cultivar.

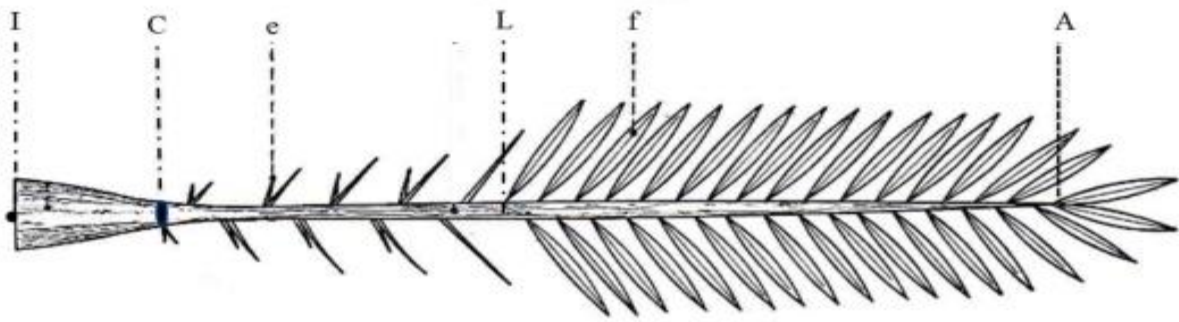


Figure 9: Différents éléments d'une palme du dattier. (I) le point d'insertion visible de la palme sur le stipe, (C) insertion de la première épine, (e) épine, (L) insertion de la première foliole, (f) foliole, (A) point terminal de la nervure principale (**Munier, 1973**).

II.3.3 Organes reproducteurs

D'après **Peyron, (2000)** toutes les espèces du genre *Phoenix*, et donc le palmier dattier, sont des arbres dioïques. Les sexes étant séparés, il existe donc des pieds mâles donnant du pollen et des pieds femelles produisant des fruits «les dattes».

II.3.3.1. Les inflorescences (spadices)

L'inflorescence est munie à sa base d'une grande bractée (b), qui dans un premier temps, l'enveloppe et la protège de la chaleur du soleil (**Mason, 1915**). Sa forme lancéolée facilite son émergence hors de la gaine qui le comprimait entre pétiole et stipe. L'inflorescence est composée d'un axe principal (I-A) qui comprend une partie stérile (I-C), le pédoncule et une partie fertile (C-A), le rachis qui porte de nombreuses ramifications ou épillets (Figure 10). Les épillets sont à leur tour constitué d'une partie stérile (s) et d'une partie fertile (f) qui porte des fleurs puis des fruits (**Zango et al., 2013**).(Figure 11).

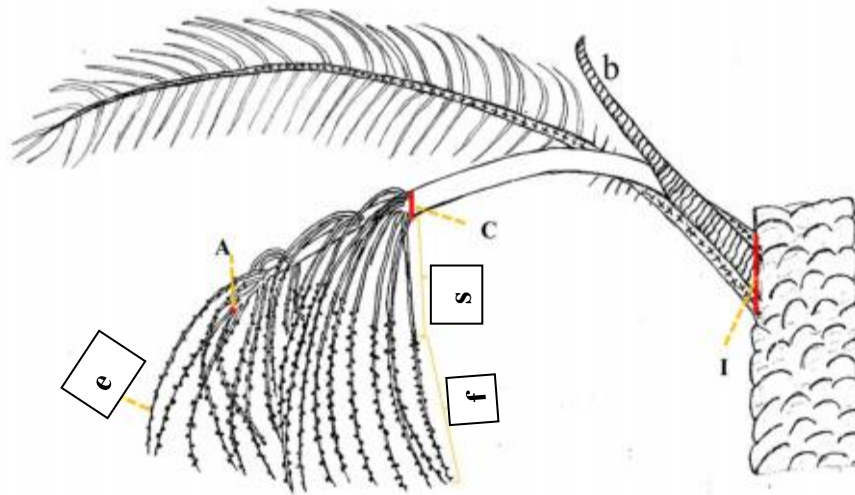


Figure 10: Inflorescence femelle du palmier dattier. (I) insertion visible de l'inflorescence au stipe, (b) bractée, (C) insertion des premiers épillets, (A) point apical de l'inflorescence, (s) partie stérile de l'épillet, (f) partie fertile de l'épillet et (e) fleur (Zango et al., 2013).

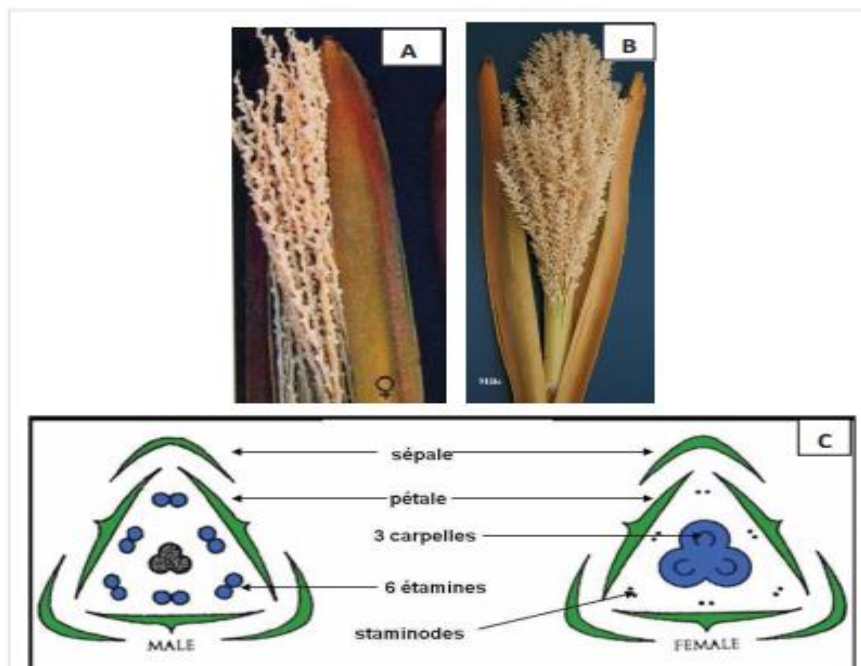


Figure 11: Inflorescences du palmier dattier. A : inflorescence femelle ; B : inflorescence mâle ; C:diagramme floral (Daher, 2010).

II.3.3.2. Les fleurs

Les fleurs (e) sont unisexuées, pratiquement sessiles (Daher et al., 2010). Les fleurs sont petites, très nombreuses, solitaires ou groupées sur le même pédoncule. Elles sont souvent jaunâtres, et soit unisexuées (mâles ou femelles) portées par le même individu (palmier monoïque), soit portées par des individus différents (palmiers dioïques), soit encore

Chapitre II : Généralité sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

hermaphrodites. Elles sont groupées sur des inflorescences plus ou moins grandes et ramifiées, souvent formées de panicules en racème ou en épis, quelquefois sous forme de spadice, et enveloppées et protégées, avant leur épanouissement, par une ou plusieurs bractées appelées spathes, coriaces et ligneuses (Christophe, 2004).

II.3.3.2.1. La fleur femelle

La fleur femelle est globulaire, d'un diamètre de 3 à 4 mm (Babahani, 1991). De couleur blanc ivoire et vert clair. (Figure 12). Elle comporte :

- ✓ un calice court en forme de cupule ou cupuliforme à trois pointes, formé de trois sépales soudés ;
- ✓ une corolle constituée de trois pétales ovales et arrondis, de six étamines avortées ou staminodes ;
- ✓ le gynécée comprend trois carpelles indépendants à un seul ovule anatrope s'insérant à la base de l'ovaire (Munier, 1973).

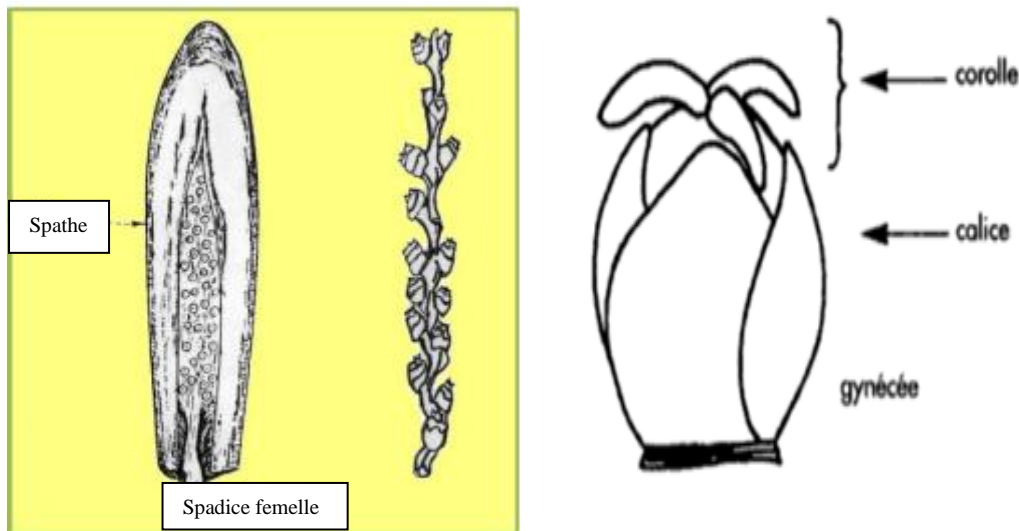


Figure 12: Schéma d'une fleur femelle (Munier, 1973 ; Peyron, 2000).

II.3.3.2.2. La fleur mâle

Elle est d'une forme légèrement allongée, d'une couleur blanche ivoire. (Figure 13). Elle comporte :

- ✓ un calice court et cupuliforme tridenté, formé également de trois sépales soudés ;
- ✓ une corolle formée de trois pétales légèrement allongés et se terminant en pointe, de six étamines disposées sur deux verticilles. Lorsqu'elle est épanouie, elle exhale une odeur caractéristique.

Les fleurs mâles restent fermées jusqu'à ce que le pollen soit libéré (Munier, 1973).

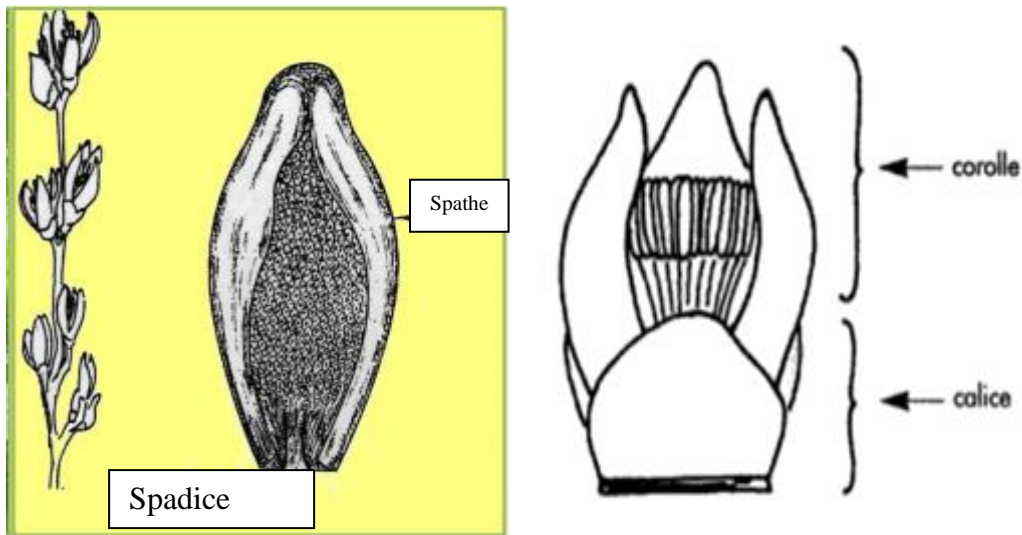


Figure 13: Schéma d'une fleur male (Munier, 1973 ; Peyron, 1994).

II.3.3.3. Les fruits (les dattes)

Les fruits sont des drupes ou des baies. Contenant une seule graine, vulgairement appelée noyau la datte (Figure 14), est constituée d'un mésocarpe charnu protégé par fin péricarpe (Munier, 1973).

L'endocarpe se présente sous la forme d'une membrane très fine entourant la graine (Djerbi, 1995), les dattes sont généralement de forme allongée ou ovoïde et en rencontre également des dattes sphériques (Peyron, 2000).

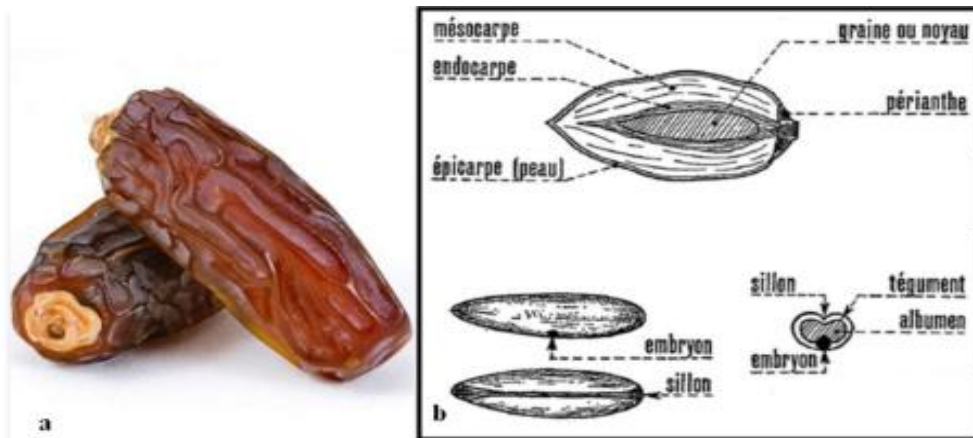


Figure 14: (a)Fruit du palmier dattier (datte) au stade tamar, (b) coupe longitudinale d'une datte et de son noyau (Munier, 1973).

II.4. Cycle végétatif du palmier dattier

Selon Belguedj, (2002) la production de dattes passe par un cycle de quatre phases, à savoir, la phase jeune où la croissance et le développement du palmier dattier, qui s'étend de la plantation jusqu'aux premières productions. Selon le milieu et les soins apportés, cette phase

Chapitre II : Généralité sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

peut durer de 5 à 7 ans ; la phase juvénile qui une période d'entrée en production, elle se situe autour de 30 ans d'âge du palmier ; la phase adulte caractérisée par un début de décroissance de la production, elle se situe autour de 60 ans d'âge du palmier et surtout si le palmier est dans des conditions de culture médiocres et enfin la phase de sénescence parue quand un palmier atteint les 80 ans ou plus, il a une chute de production. Le cycle végétatif annuel a été représenté par **Belguej, (2002)**. (Tableau 4).

Tableau 4: Cycle végétatif 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												
Grossissement des fruits												
Prématuration (Bser)												
Maturation (Tmar)												
(Tmar) Récolte												
Repos vegetative												

II.5. Modes de multiplication du palmier dattier

Le palmier dattier est habituellement multiplié via deux méthodes: la propagation traditionnelle et la micro-propagation.

II.5.1. Les techniques conventionnelles de multiplication du palmier dattier

Dans les populations non cultivées, le dattier se multiplie naturellement par le biais de graines (reproduction sexuée). Dans les zones à forte tradition phœnicicole (Maghreb, Moyen Orient), il est principalement propagé par voie végétative, c'est-à-dire par rejet (**Munier, 1973**).

II.5.1.1. Semis des graines

La méthode de semis par graine est le moyen le plus ancien pour la propagation du palmier dattier. Son principal avantage est la simplicité de son application et permet d'élargir la diversité génétique du palmier. Par conséquent, cette technique se révèle très pratique dans les

programmes de reproduction et de sélection parmi la descendance ce qui peut conduire au développement de meilleurs palmiers à traire intéressants (**Abahmane, 2011**).

II.5.1.2. La multiplication par rejet

C'est une multiplication végétative du palmier, qui permet une reproduction pratiquement conforme et une transmission génétique fidèle des caractères des parents (**Sedra, 2003**), c'est la technique de multiplication végétative la plus conventionnelle.

Cependant, il y a des contraintes qui limitent son utilisation à grande échelle, un seul arbre ne peut produire dans toute sa vie plus de 40 rejets d'une façon irrégulière qui dépend de l'environnement, de la variété et de l'âge de la plante.

Cette méthode est aussi très lente, il nous faut au moins 30 années pour obtenir quelques milliers de palmiers à partir d'une plantation de rejets, et en plus que ça les rejets constituent un moyen de dissémination de la maladie du bayoud et d'autres maladies infectieuses (**El Hadrami et al., 1998**). Un autre inconvénient est que les rejets sont difficiles à arracher et les taux de reprise et de réussite de ses plantations sont généralement inférieurs à 60% (**Abahmane, 2011**).

II.5.2. La multiplication par culture *in vitro*

De très nombreux ouvrages ont traité de la culture *in vitro* au cours de la deuxième moitié de ce siècle décrivant toutes les méthodes déployées aussi bien dans le domaine animal que végétal (**Auge et al., 1989**). Il s'agit globalement d'une méthode de culture des plantes en conditions aseptiques, c'est-à-dire sans champignon et sans bactérie, utilisant des milieux de culture assez complexes (hormones, sucres, vitamines, acides aminés, sels minéraux) qui peuvent être liquides, gélosés, voire même solides avec l'emploi de la vermiculite (**Jay-Allemand et al., 1992**). On peut penser que la composition de ces milieux est maîtrisée.

Les biotechnologies végétales reposent principalement sur les cultures *in vitro*. En 1902, Haberland, un biologiste Allemand, observe les potentialités naturelles de la multiplication végétative (bouturage). Suite à ces travaux, il énonce le premier grand principe qui ouvrira la voie de la micro-propagation (**Margarit, 1989**).

La propagation végétative *in vitro* a ouvert la voie à une autre modalité de multiplication des meilleurs cultivars performants ; fonde sur les techniques de culture des tissus, constitue sans doute le moyen le plus prometteur pour la réhabilitation des palmeraies marocaines dévastées via une multiplication à grande échelle de l'espèce. Deux méthodes de micro-propagation ont été adoptées, l'organogenèse et l'embryogenèse somatique (**Aberlanc-Bertossi, 2010**).

Chapitre II : Généralité sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

L'organogenèse qui repose sur les capacités de bourgeonnement de plusieurs types d'explants (**Bouguedoura, 1991**). Et l'embryogenèse somatique qui vise à différencier des cellules somatiques afin de permettre la formation d'embryons (**Zango, 2016**)

II.6. Importance de palmier dattier

De tout temps, le palmier dattier a eu une place privilégiée dans l'existence et le développement des oasis, ce qui s'explique par un ensemble de raisons :

le palmier dattier est particulièrement bien adapté aux zones arides et semi-arides, qui se caractérisent par une faible pluviométrie et de fortes températures allant de - 5 jusqu'à 50°C (espèce thermophile et héliophile) (**Wrigley, 1995 ; Chao et Krueger, 2007**). La température de croissance optimale se situe entre 12,7 et 27,5 °C (**Zaid et De Wet, 2002**).

Aussi le palmier dattier est un arbre très productif, les rendements moyens peuvent aller, de 100 à 200 kg/ arbre et par an. Certains pieds peuvent produire des taux très élevés atteignant parfois les 400 à 600 kg/ arbre et par an (**Amer, 1994**).



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

III.1. Milieu de culture

Le milieu MS (Murashige et Skoog, 1962) est utilisé pour la majorité des travaux *in vitro* sur le palmier dattier et en particulier pour l'induction de la callogenèse (Reuveni et Kipnis, 1974; Reynolds et Murashige, 1979; Tisserat, 1979; Daikh et Demarly, 1987; Saka et Abed, 1989; El Hadrami et al., 1998).

Le milieu nutritif utilisé était composé de Murashige & Skoog, 1962, puisqu'il est, d'une part, le plus populaire dans la propagation du palmier dattier par culture tissulaire, et d'autre part, il dépasse tous les autres solutions en libérant la formation des nouveaux bourgeons (Margara, 1984).

III.2. Les étapes de culture *in vitro* de palmier dattier

L'embryogenèse somatique et l'organogenèse (Figure15) sont les deux principaux modes de micro-propagation du palmier dattier, qui sont largement acceptés dans le domaine de la culture tissulaire dans le monde. (Tableau5). (Bhansali, 2010).



Culture *in vitro* par

Organogenèse

Photo: **Bouguedoura.**

production de cal en

embryogenèse somatique

Photo: **Yatta.**

in vitro-plant prêt à transférer

au champ

Photo: **Tirichine.**

Figure 15: Micro-propagation du palmier dattier *in vitro* (Tirichine, 2010).

Tableau 5: Les différents travaux réalisés sur la micro-propagation du palmier dattier (Chabane, 1995).

Années.	Auteurs.	Organes employés.	Résultats obtenus.
1977	Ammar et Benbadis	Embryons excisés	Plantules
1978	Eeu Wens	Bases de feuilles	Plantules
1979	Bouguedoura	Bourgeons végétatifs	Plantules
1979 A et B	Tisserat	Embryons excisés des graines	Plantules
1979	Rhiss et al	Cœur des rejets	Plantules
1983	Drira	Bourgeon végétatif, Feuilles	Plantules
1985	Drira et Benbadis	Jeunes inflorescences	Plantules
1989	Ait Chitt	Cœur du rejet	Plantules
1989	Ben Abdellah	Bourgeon axillaire, Apex	Plantules

1989	Loutfi	Jeunes inflorescences	Plantules
1989	Saka et Abed	Apex, bases de feuilles, Bourgeons végétatifs, Rachis	Plantules
1991	Scoarnel	Apex, bases de feuilles, Bourgeons végétatifs	Plantules
1993	Anjarne et Zaid	Bases de jeunes feuilles	Plantules
1993	Bougerfaoui et Zaid	Bases de jeunes feuilles	Plantules

III.2.1. La multiplication *in vitro* du palmier dattier par la technique d'organogénèse

L'organogénèse se réfère au développement du tissu d'organe avec une connexion vasculaire et finalement qui influence la formation de la plante à partir d'un explant avec ou sans le stade de cal intermédiaire. La micro-propagation du palmier dattier favorise l'organogénèse directe d'un explant sans stade de formation de cal. Pour produire des cultivars d'élite à partir d'une multiplication clonale rapide, des techniques d'organogénèse directe font été largement adoptées (Khierallah et Bader, 2007).

III.2.1.1 Les différentes étapes d'organogénèse

Il existe différentes étapes impliquées dans l'organogénèse du palmier dattier (Figure16): formations de bourgeons adventifs, multiplication des bourgeons de pousses, allongement des pousses et enracinement (Abahmane, 2011; Mazri et Meziani, 2015).

III.1.2.1.1. L'initiation des tissus organogènes

L'initiation de tissus organogènes se fait à des sites potentiellement méristématiques préexistant au niveau de l'épiderme interne de la base des jeunes feuilles du bourgeon terminal ou du cœur du rejet (Aissam, 1990), ces cellules pré méristématique commencent à fonctionner par suite de la levée d'inhibition exercée par le bourgeon axillaire, cette levée peut être mécanique par élimination du bourgeon ou chimique sous l'action des hormones à dominance auxinique. Cette phase se déroule à l'obscurité et aboutit à la formation de souches réactives (Djerbi, 1994).

III.1.2.1.2. Multiplication des bourgeons de pousses

La multiplication des bourgeons de pousses est effectué à la lumière dans un milieu où la teneur en cytokines est augmentée ; ce cycle est répété autant de fois qu'il faut pour atteindre le nombre de bourgeons désirés (Fredj, 2007).

III.1.2.1.3. Allongement et enracinement des pousses

Le milieu avec ou sans hormone favorise l'allongement des pousses et l'enracinement dans le palmier dattier. Doivent déboucher vers la formation de plants vigoureux et bien constitués ayant la structure d'un petit poireau (Beauchesne, 1988).

III.1.2.1.4. Acclimatation de la plantule

L'acclimatation des plantules est la dernière étape de la micro-propagation, est influencée principalement par les conditions de culture antérieures.

Dans ce cas, les plantes avec de vraies racines sont transférées des tubes à la serre ceci simule la nature externe vers laquelle les plantes seront transférées de manière durable (**charbassi, 2018**).

Le succès de cette technique dépend énormément du succès de l'étape d'initiation, et que divers problèmes rencontrés, trouvent leur origine dans la phase d'initiation qui peut être phase trop longue, influencée par la contamination bactérienne, le phénomène de brunissement, le manque de réaction de certaines variétés et le développement de racines précoces; alors que la phase de multiplication est caractérisé par un taux de multiplication faible et irrégulier et une perte de totipotence pour certaines variétés ; tandis que la phase d'enracinement et allongement est caractérisé par des racines efficaces mais faibles ce qui mène à une phase d'acclimatation avec un faible taux de survie (**Zaid, 2002**).

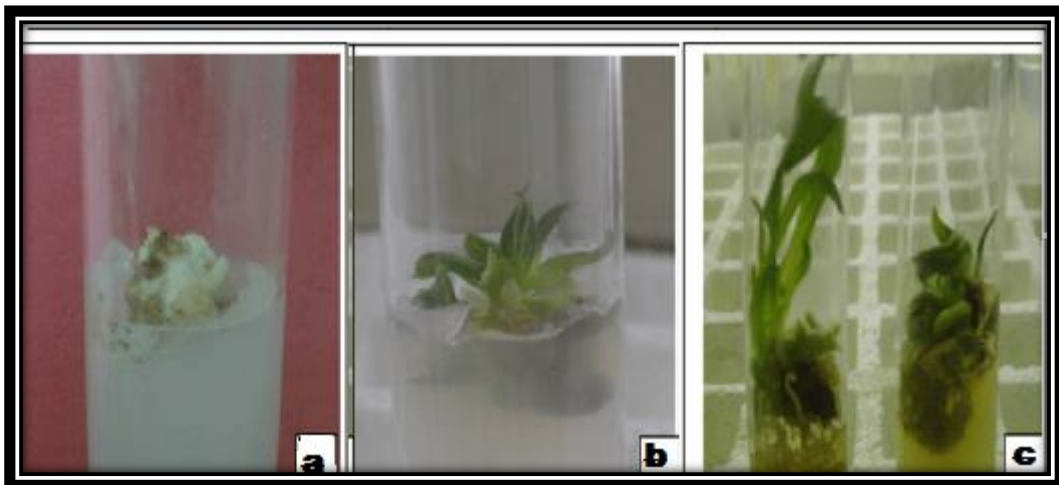


Figure 16: Les étapes de la multiplication de palmier dattier par organogenèse sur milieu MS (**Al Mayahi, 2008**).

III.2.1.2. Avantages de la multiplication *in vitro* par organogenèse

Cette technique présente un avantage appréciable à savoir la production de vitro plants Conformes aux variétés d'origine (**Anonymous, 1989**), la néoformation directe de bourgeons, la multiplication rapide des plantes.

III.2.1.3. Inconvénients de la multiplication *in vitro* par organogenèse

Selon **El Hadrami, (1991)** cette technique se heurte à quelques obstacles parmi lesquels :

- la lenteur dans la réactivité des explants ;
- les contaminations endo-phytiques ;
- les coefficients de multiplication faibles et aléatoires chez certains cultivars ;

- le brunissement des tissus et des milieux ;
- l'enracinement précoce des bourgeons et la vitrification des tissus ;
- les pertes enregistrées lors de l'acclimatation.

III.2.2. La multiplication *in vitro* de palmier dattier par l'embryogenèse somatique

L'embryogenèse somatique est l'une des technologies les plus importantes pour la régénération des plantes (Tableau6) (Fki et al., 2011). L'embryogenèse somatique reproduit les étapes de l'embryogenèse zygotique avec comme différence que les plantes produites sont les résultats d'embryons non originaires de cellules reproductives. La concentration très élevée de phytohormones au cours de la culture peut augmenter le risque de mutation chez les plantules obtenues. L'embryogenèse somatique, qui a été décrite indépendamment pour la première fois en 1958 par Reinert et Steward et al., peut être réalisée de deux manières (Reinert, 1958; Steward et al., 1958).

- La première est l'embryogenèse somatique directe où la production des embryons est directement réalisée sur le tissu en culture. À titre d'exemple, cette technique a été employée sur des cellules épidermiques de jeunes feuilles de palmier dattier afin d'induire la formation de cellules embryonnaires sans passer par la callogenèse (Sudhersan et al., 1993).
- La seconde est une voie indirecte, fréquemment utilisée, qui passe par une étape de dédifférenciation avant la production d'embryons (Al-Khayri, 2005).

Chez le palmier dattier, certains auteurs ont donné plus d'importance à l'embryogenèse somatique, principalement en raison de son potentiel élevé pour la propagation en masse (Poulain et al., 1979; Reynolds et Murashige, 1979; Tisserat et Demason, 1980; Daguin et Letouzé, 1988; Bhaskaran et Smith, 1985; EL Hadrami et al., 1998; Masmoudi, 1999; AlKhayri et Al-Bahrany, 2001; Fki et al., 2003; Al-Khateeb, 2008b; Othmani et al., 2009).

III.2.2.1. Facteurs affectant l'embryogenèse somatique

Plusieurs facteurs influencent le développement des tissus cultivés, en particulier la nature de l'explant et les conditions de culture.

III.2.2.1.1. Nature de l'explant

L'aptitude à l'embryogenèse somatique varie en fonction de la partie de la plante mise en culture. Lors de ces processus, des tissus de type juvénile sont généralement utilisés pour leurs propriétés de totipotence. Pour induire des cals embryogénèses chez le dattier, différents types d'explants ont été utilisés comme les embryons zygotiques, les apex, les feuilles, les bourgeons latéraux ou les inflorescences (Fki et al., 2011). Le succès de l'induction des cals nécessite des conditions physico-chimiques très particulières qui sont essentielles pour la dédifférenciation des cellules.

Chez le palmier dattier, la callogenèse est un processus très lent qui peut nécessiter 4 à 8 mois (Fki et al., 2011). Ce caractère semble être une caractéristique générique de la culture *in vitro* de la famille des Arecaceae, comme cela a été décrit pour le cocotier (Verdeil et Buffard-Morel, 1995) et le palmier à huile (Duval et al., 1995). Cette étape de culture très lente a évidemment un impact négatif sur le coût des vitro-plants. Les cals apparaissent généralement soit sur la surface supérieure ou inférieure des feuilles, cependant le côté inférieur est nettement plus productif et génère le plus grand nombre de cals (Fki et al., 2003). Dans le cas où une inflorescence immature est utilisée en tant qu'explant primaire, seuls les cals qui proviennent de la prolifération des tissus floraux montrent un potentiel embryogène. La capacité de callogenèse des inflorescences est généralement plus élevée que celle des feuilles (Drira et Benbadis, 1985; Fki et al., 2003). Certains auteurs ont rapporté que les embryons zygotiques matures ou immatures produisent des cals avec une faible capacité embryogène (Reynolds et Murashige, 1979; Fki, 2005), ce qui représente un résultat inattendu au vu de l'importante capacité morphogénétique de ces explants chez d'autres espèces comme le palmier à huile (Teixeira et al., 1995).

III.2.2.1.2. Milieu de culture

Le paramètre le plus important après la nature de l'explant est la composition du milieu de culture qui est un facteur essentiel pour la réussite de l'embryogenèse somatique et la régénération des vitro-plants. Les milieux nutritifs sont généralement basés sur celui de Murashige et Skoog 1962 (Figure 17) avec certaines optimisations en ajoutant d'autres éléments tels que des facteurs de croissance, une source de carbone et une source organique ou inorganique d'azote (Figure). Plusieurs recherches ont montré que l'auxine 2,4-D est la plus appropriée pour l'initiation de la callogenèse du palmier dattier. En outre, des concentrations supérieures ou égales à 5 mg/L (Tisserat, 1979; AL-Hadrami et Baaziz, 1995) ou même inférieures à 1 mg/L se sont montrées efficaces (Masmoudi et al., 1999; Fki et al., 2003). Les cytokinines telles que la 2iP (2-isopentyle adénine) ne semblent pas être nécessaires, comme c'est le cas pour de nombreuses plantes monocotylédones (Magnaval et al., 1997).

Dans une étude pour déterminer les effets du sirop de palmier dattier sur l'induction de l'embryogenèse somatique, l'auteur a constaté qu'un tel extrait naturel pourrait être utilisé à une concentration de 6% pour remplacer le saccharose (Al-Khateeb, 2008). Une autre étude a montré l'impact positif des extraits méristématiques de palmier dattier sur l'embryogenèse somatique (El-Assar et al., 2004).

Enfin, la fragmentation des explants permet un contact direct des cellules totipotentes avec le milieu de culture et donc une meilleure initiation des cals embryonnaires (Fki, 2005).

Néanmoins, il a été constaté que la fragmentation de l'explant conduit souvent à une prolifération rapide des bactéries endogènes.

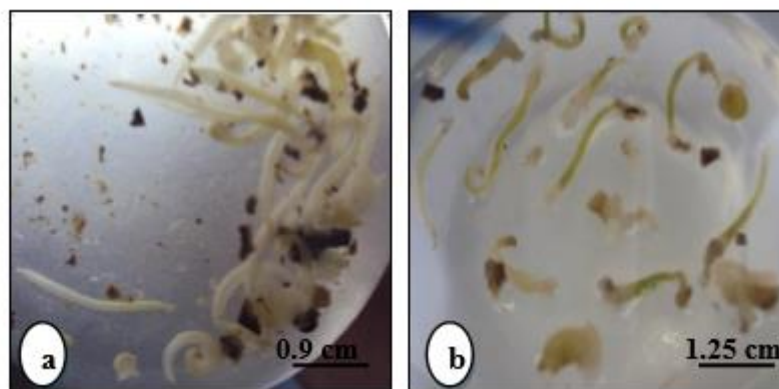


Figure 17: (a) Embryons somatiques en milieu liquide dépourvu de régulateurs de croissance après 1 mois de culture d'une suspension cellulaire ; (b) Développement des embryons somatiques sur milieu solide sans régulateurs de croissance après 2 mois de culture (**Selmani et al., 2013**).

III.2.2.2. Les différentes étapes d'embryogenèse somatique indirecte

III.2.2.2.1. Etape d'induction de cals embryonnaires et formation d'embryons somatiques

C'est un processus qui permet la néoformation, sur l'explant mis en culture par un passage d'une dédifférenciation d'un amas cellulaire qui aboutit à la formation du cal (**El Bellaj et al., 2000**).

L'induction de cals embryonnaires dans le palmier dattier est influencée par différents paramètres tels que le génotype, le type d'explants, la période d'induction et le PGRs. Dans le cas des extrémités des pousses ou des inflorescences, des niveaux élevés d'auxines ont été utilisés pour induire des cals embryogènes. L'acide 2,4-dichlorophénoxy acétique (2,4-D) serait l'auxine la plus efficace pour l'induction de cal embryonnaire dans le palmier dattier, et il a été utilisé principalement à la concentration de 100 mg/l. L'induction de cals embryonnaires à l'aide de 100 mg/l de 2,4-D a été rapporté chez de nombreux cultivars de palmier dattier tels Khanizi et Modarsing, Khasab et Nabout (**Mazri et Meziani, 2015**).

Cependant, **Fki et al., (2011)** ont mentionné que des doses élevées de 2,4-D peuvent induire une variation soma-clonale.

L'induction de cal embryonnaire est un processus très lent chez le palmier dattier. La période d'induction varie selon le génotype et peut durer de quelques mois à plusieurs mois. **Othmani et al., (2009)** ont rapporté la formation d'embryons somatiques après 6-7 mois d'induction chez le palmier dattier cv. Boufeggous. Dans cvs de palmier dattier Amry, Malakaby et Zaghlol,

Hassan et Taha, (2012) ont observé des embryons somatiques après 9 mois d'induction, tandis qu'Esharghi et al., (2005) a suggéré une période d'induction de 12 mois de cvs.

III.2.2.2.2. Etape de développement, maturation et germination d'embryons somatiques

Selon Sghaier et al., (2008), la maturation des embryons somatiques passe par trois stades de développement: stade 1: embryon ovoïde; stade 2: allongement de l'embryon; stade 3: embryon structuré (Figure18).

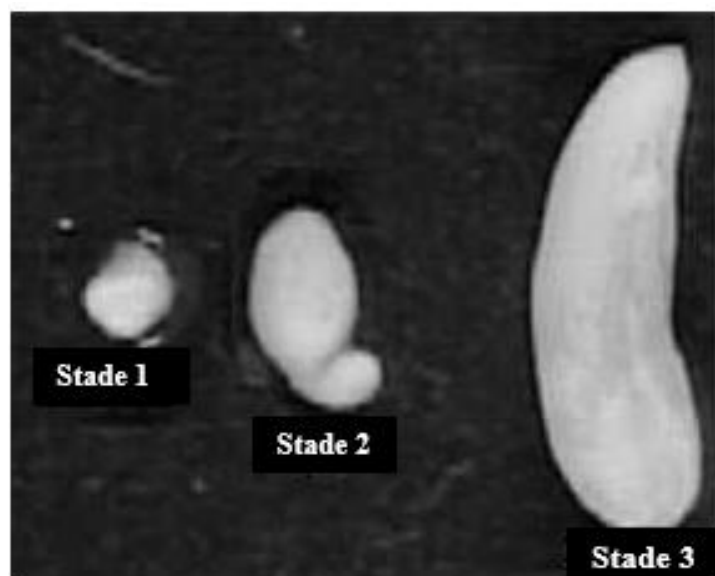


Figure 18: Les trois stades de développement d'un embryon somatique (Sghaier et al., 2008).

De nombreux facteurs affectent la maturation et la germination des embryons somatiques du palmier dattier. La maturation de l'embryon somatique dans le palmier dattier peut se produire dans un milieu semi-solide ou à partir de cellule cultivées en suspension dans un milieu liquide (Mazri et Meziani, 2015). Cependant Fki et al., (2011) ont rapporté que le nombre des embryons matures augmentent considérablement en milieu liquide. En fait, dans le palmier dattier cv. Deglet Nour, ces auteurs ont rapporté la production de 200 embryons à partir de 100 mg de cals frais en milieu liquide après une période de culture d'un mois, alors que seulement 10 embryons ont été récupérés à partir de la même quantité de cals sur un milieu solidifié (Fki et al., 2003).

La germination des embryons somatiques a été réalisée avec différents traitements. Zouine et El Hadrami, (2009) ont utilisé une combinaison de 6-benzylamino purine (BAP), d'acide indole-3-butérique (IBA) et d'acide 1-naphtalénacétique (NAA) pour favoriser la germination des embryons dans les cv de palmier dattier Jihel et Bousthami Noir. Dans cv. Boufeggous, Othmani et al., (2009a) ont indiqué que 1 mg /l de NAA a entraîné la germination et la conversion en plantules de 81% des embryons somatiques. Al-Khayri, (2003) a rapporté que la concentration

de NAA, IBA influencent la germination des embryons somatiques. Dans cvs de palmier dattier. Malkaby et Barhee, des fréquences de germination de 83,3 et 60,0% par ordre ont été observées, respectivement, après 3 heures de dessiccation, (**Ibrahim et al., 2012**). **Ibrahim et al., (2012)** ont rapporté que la fréquence de germination des embryons somatiques varie avec le génotype utilisé.

L'embryon somatique est caractérisé par une structure bipolaire, un pôle qui donne les feuilles et un pôle racinaire (**Auge, 1989**).

III.2.2.2.3. Etape d'acclimatation des plantules

Les plantules régénérées saines âgées de deux mois avec des pousses et des racines bien développées ont été retirées du milieu d'enracinement et le gelrite restant a été lavé sous l'eau du robinet et planté dans un mélange de tourbe et de perlite et cultivé dans un serre avec $27 + 2^{\circ} \text{C}$ sous la lumière du soleil et 80-90% d'humidité relative (**Hassan et Taha, 2012**). (Figure19).

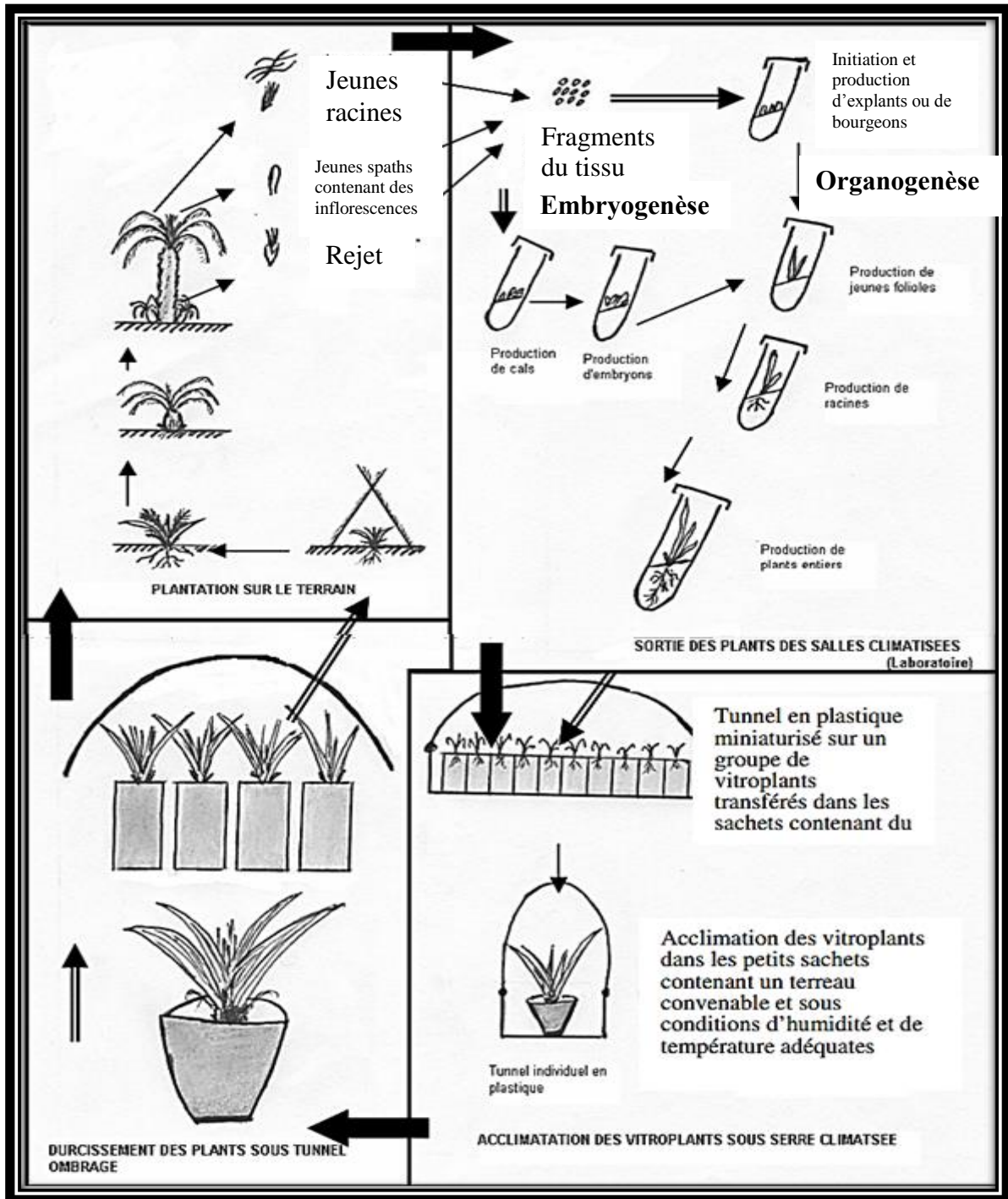


Figure 19: Différentes étapes de multiplication *in vitro* du palmier dattier en fonction des techniques. Après plantation, les jeunes plants doivent être protégés avec des palmes saines contre les facteurs climatiques agressifs (chaleur, vents violents chargés de sable, froid d'hiver,..) (sedra, 1985).

III.2.2.3. Les différentes étapes d'embryogenèse somatique directe

L'embryogenèse somatique directe permet d'aboutir à la néoformation des embryons somatiques directement sur différents explants mis en cultures tels que les méristèmes apicaux, les fragments

de gaines et stipes et des bourgeons axillaires. Les processus consiste à une différenciation des ces néoformations qui aboutissent directement au développent d'embryons lorsqu'elle sont sous des bonnes conditions de culture (**Sharp et al., 1980**).

Dans cette méthode, l'apex en développement est implanté dans un milieu alimentaire approprié de sorte que l'embryon se forme directement sur la partie végétative (**Charbassi, 2018**).

Selon **Almusawi et al., (2015)** l'explant est cultivé sur un milieu de sel inorganique MS complété par PGRs. Au-delà du sel minéral, des régulateurs de croissance, des acides aminés, des vitamines, saccharose et agar. Les données relatives au nombre des cultures produisant un embryon somatique directe ont été enregistré après 3-4 mois. Les cultures ont été incubées l'obscurité $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ et repiquées dans le même milieu toute les 8 semaines d'intervalle.

Et après l'embryon est prélevé et cultivé selon les reste étapes d'embryogenèse somatique indirecte (**Charbassi, 2018**).

III.2.2.4. Avantages de la multiplication *in vitro* par l'embryogenèse somatique

Au niveau d'une production en masse, cette voie ouvre de grands espoirs étant donné le peu de différence observé en regard des variétés de palmier dattier utilisée et la conformité des vitro plants obtenus (**Leouze et Daguin, 1988**).

III.2.2.5. Inconvénients de la multiplication *in vitro* par l'embryogenèse somatique

- l'inconvénient majeur de l'embryogenèse somatique indirecte est le passage par une phase de callogenèse, source de variation soma-clonale (**Merkle et al., 1990 et Osuga et al., 1999, Sghaier et al., 2008**).

- Quel que soit le type d'explant utilisé, les deux techniques de micro propagation se trouvent limitées par de nombreux facteurs. Il s'agit notamment :

-De la lenteur dans la réactivité des explants.

-Des contaminations endophytiques.

-Des coefficients de multiplication faibles et aléatoires chez certains cultivars.

-Du brunissement des tissus et des milieux.

-Des pertes à l'acclimatation.

-De l'enracinement précoce des bourgeons et de la vitrification des tissus.

-Des pertes à l'acclimatation (**Al-hadrami, 2002**).

Tableau 6: Les travaux réalisées sur la multiplication *in vitro* par embryogenese somatique du palmier dattier (**Fergani, 1998**).

Année	Auteur	Explantes employés	Résultats obtenus
--------------	---------------	---------------------------	--------------------------

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

1979	Reuveni	Embryons zygotiques excisés	Embryogenèse somatique
1979	Reynolds et Murashige	Embryons immatures	Proembryons et embryons somatiques
1979	Tisserat	Apex, bourgeons axillaires et fragments de rachis de cœur de rejet, embryons excisés de graine ainsi que des inflorescences	Plantules par embryogenèse somatique à partir des bourgeons axillaires
1980	Tisserat et De Mason	Bourgeons axillaires de rejets	Embryons somatiques
1983	Mater	Embryons zygotiques immatures	Plantules parembryogenèse somatique
1984	Sharma et <i>al</i>	Bourgeons axillaires et apex	Plantules
1985	Drira et Benbadis	Inflorescences jeunes	Embryons somatique
1985	Gabr et Tisserat	Apex de semis	Plantules
1986	Mater	Plantules par embryogenèse Somatique	Plantules
1986	Abo el Nil	Plantules par embryogenèse Somatique	Plantules
1987	Daikh et Demarly	Explants foliaires de vitro-plants	Obtention de semences artificielles
1988	Daguin et Letouze	Cœur de rejets de 5 cultivars : Boufeggous. Bouskri. Halawy. Kadrawy et Medjool	Semences artificielle par utilisation d'un milieu liquide agité pour une meilleure homogénéisation du développement des embryons somatiques
1989	Cheikh et <i>al</i>	Feuilles produites <i>in vitro</i>	Plantules
1989	Lachqer Sillou	Tissus de cœur de rejets et embryons zygotiques	Plantules par embryogenèse somatique à partir des embryons zygotiques, des apex et des bases de jeunes feuilles de cœur de rejets
1989	Loutfi	Inflorescences mâles et femelles de 4 variétés: Djihel. Iklane. Tadinent et Boufeggous.	Plantules par embryogenèses somatique à jeunes inflorescences
1989	Saka et Abed	Apex, base de feuilles, bourgeons végétatifs, fragments de rachis de Cœur de rejets	Embryons somatiques
1989	Zaid	Rachis, feuilles de cœur de rejets et embryons zygotiques de graines matures	Plantules
1991	Scoarnec	Apex, bases de feuilles, bourgeons végétatifs	Plantules

1995	Chabane	Apex, bourgeons axillaires, rachis, stipe, feuilles de cœur de rejets.	Callogenèse, cals embryogénèse
1998	Fergani	Apex, bourgeons axillaires, rachis, stipe, feuilles de cœur de rejets	Plantules

III.3. Intérêt de culture *in vitro* de palmier dattier

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: en moyenne dix tous les dix ans à partir de rejet contre doublement tous les mois dans le cas de la multiplication par organogénèse *in vitro* (Tisserat, 1979).

Un autre intérêt très important de la multiplication *in vitro* est de permettre l'échange de matériel sain et, plus particulièrement indemnes vis à vis des deux principaux organismes mortels du dattier connus aujourd'hui: le *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* responsable de la maladie mortelle du bayoud et le charançon rouge des palmiers. Dans les deux cas, c'est, en totalité ou en grande partie, à cause de l'échange de rejets infestés que ces organismes ont été disséminés et continuent à l'être (Bertossi, 2010).

III.4. Principaux problèmes et facteurs affectant la micropropagation de palmier dattier

III.4.1. Brunissement des tissus

Le brunissement de l'explant est le problème le plus fréquent dans la culture tissulaire du palmier dattier qui conduit finalement à la mort du tissu. Au cours de la micropropagation, l'embryogénèse somatique (Abohatem, Zouine, El Hadrami, 2011) et l'organogénèse rencontrent ce problème. La raison en est que les tissus de dattes contiennent des niveaux élevés de composés phénoliques qui sont toxiques pour le tissu et provoquent finalement sa mort (Loutfi et El Hadrami, 2005). Au cours de la procédure de stérilisation de surface, l'acide ascorbique et l'acide citrique sont utilisés pour contrôler le brunissement du tissu explant (Al-Khayri, 2010; Khierallah, 2015; Naik, Al-Khayri, 2016). Afin d'éviter ce brunissement, de nombreux chercheurs ajoutent du charbon actif et de la polyvinylpyrrolidone (PVP) dans le milieu de culture (Al-Khayri, 2001; Mazri et Meziani, 2013; Naik; Al-Khayri, 2016).

III.4.2. Hyperhydricité

L'hyperhydricité fait référence à l'accumulation de la teneur en eau dans le tissu cultivé. Ce trouble physiologique est courant dans l'embryogénèse somatique et l'organogénèse du palmier dattier (Mazri, 2015; Mazri et Meziani, 2013; Mccubbin et Zaid, 2007 ; Kriaa, 2012) rapporté

lorsque des cals hydratés ont été cultivés à faible concentration de 2,4-D pendant une longue période, les cals induiront des embryons ou des pousses somatiques. Les facteurs tels que les hormones végétales, les milieux liquides et la concentration d'ammoniac utilisés sont responsables de l'hyperhydricité (Al-Khateeb, 2008; Mazri et Meziani, 2015).

III.4.3. Nature de l'explant

Au début de la culture tissulaire du palmier dattier, les chercheurs ont utilisé différents types d'explants: embryons, fruits immatures, racines, pétioles de feuilles, bourgeons latéraux, bouts de pousses, morceaux de tige et de tissu de rachilla (Sharma, Deepak, Chowdhury, 1986; Tisserat, 1979). Après des décennies de recherche, il a été prouvé que la micropropagation du palmier dattier est plus sensible avec les explants d'origine méristématique et ceux-ci incluent les extrémités des pousses apicales, les bourgeons latéraux et les feuilles primordiales isolées de l'extrémité des pousses (Aslam, 2011; Khan et Bi, 2012). Les cellules ou tissus méristématiques répondent rapidement aux composants du milieu de culture. Cependant, Khan and Bi, (2012) rapporté la multiplication du palmier dattier cv. Dhakki grâce à la régénération directe des pousses où différents explants tels que les extrémités des pousses, les primordiums des feuilles et le méristème apical ont été utilisés, parmi ces extrémités des pousses, il est apparu comme l'explant le plus prometteur avec la plus grande capacité de régénération directe des pousses

III.4.4. Effet de la lumière

La lumière sert de facteur externe pour réguler la croissance et le développement des plantes *in vitro*. Le large spectre de lampes fluorescentes avec une gamme de longueurs d'onde de 380 à 750 nm est utilisé comme source de lumière pour la culture tissulaire (Kim et al., 2004). L'intensité lumineuse et le type de lumière affectent la micropropagation du palmier dattier (Al-Mayahi, 2016; Meziani et al., 2015).

Meziani et al., (2015) ont évalué l'organogenèse du palmier dattier cv. Mejhoul utilisant différents niveaux d'intensités lumineuses. Les résultats expliquent que l'intensité lumineuse de 2000 à 3000 lux améliore l'allongement et le verdissement des pousses, mais une réduction de la prolifération des bourgeons de pousses a été observée. L'obscurité et la faible intensité lumineuse (500 lux) ont induit un enracinement avancé de manière significative. L'intensité lumineuse de 1000 lux pendant la phase de multiplication a montré une croissance optimale de la culture en ce qui concerne les bourgeons de pousses par explant, verdissant un enracinement avancé.

III.5. Comparaison entre les deux méthodes de micropropagation

Tableau 7: Les méthodes de culture *in vitro* du palmier dattier (Fredj, 2007).

Méthodes	Avantages	Inconvénients	Avenir
Organogenèse	<ul style="list-style-type: none"> - Propagation fidèle (conformité) - sauvegarde des cultivars en voie de disparition -Rapide par rapport à la méthode traditionnelle -une pérennité de la culture. 	<ul style="list-style-type: none"> -Une certaine difficulté autre méthodes. -Limitation du matériel utilisé (les bourgeons). -Récalcitrante certaines variétés. 	<p>l'organogenèse est la technique de propagation d'avenir du fait qu'elle présente un intérêt génétique important (la conformité).</p>
Embryogenèse somatique et suspensions cellulaires	<ul style="list-style-type: none"> - 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 mass. -Homogénéité des embryons somatiques (milieu liquide agite) -Elle est essentielle pour l'hybridation, la sélection et la cryoconservation 	<p>L'embryogenèse somatique présente le grand risque d'avoir des variations somatiques clonales et des maturations,</p> <ul style="list-style-type: none"> - passage par plusieurs étapes, ce qui nécessite une mise au point de chaque étape et donc une maîtrise de chaque étape. 	<ul style="list-style-type: none"> -L'embryogenèse 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'embryogenèse somatique est la technique d'avenir pour ceux qui s'intéressent à la diversité génétique

The image features a repeating pattern of green palm fronds in various shades of lime and light green, set against a light grey background. A white rectangular border is centered on the page, framing the text.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif essentiel visé par ce travail consiste à essayer de régénérer *in vitro* des vitro-plants du palmier dattier via l'organogenèse et l'embryogenèse somatique. La micro-propagation du palmier dattier soit par embryogenèse somatique soit par organogenèse a été signalée pour de nombreux cultivars, et plusieurs facteurs ont été révélés pour influencer ces systèmes de régénération (**Mazri et Meziani, 2015**).

La micro-propagation du palmier dattier présente un moyen efficace pour la propagation à grande échelle de génotypes résistants au bayoud, une maladie très dangereuse causée par le champignon *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, qui avait décimé plus de 12 millions d'arbres au cours du siècle dernier. Des plantules de génotypes résistants au bayoud sont utilisées pour réhabiliter les palmeraies ravagées par ce champignon. La micro-propagation permet également la multiplication à grande échelle de cultivars de haute qualité de fruits, afin de satisfaire la forte demande des agriculteurs et des consommateurs (**Mazri et Meziani, 2015**). Concernant la multiplication *in vitro* par l'embryogenèse somatique, au niveau d'une production en masse, cette voie ouvre de grands espoirs étant donné le peu de différence observé en regard des variétés de palmier dattier utilisée et la conformité des vitro-plants obtenus (**Leouze et Daguin, 1988**). Cependant l'inconvénient majeur de l'embryogenèse somatique indirecte est le passage par une phase de callogenèse, source de variation somaclonale (**Merkle et al., 1990 ; Osuga et al., 1999 ; Sghaier et al., 2008**).

Malgré la multiplicité des travaux sur la micro-propagation de palmier dattier, il devrait s'agir d'autres recherches nécessaires pour optimiser les conditions de culture des génotypes et cultivars récalcitrants nouvellement sélectionnés, pour raccourcir le temps nécessaire à la production de plantules et pour réduire l'incidence des troubles physiologiques. Il est également important de mener des études liées à l'application de l'embryogenèse somatique à la transformation génétique, à la production de graines synthétiques et à la cryoconservation des cultures embryogènes.



**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

- Abahmane, L. 2011a. Date palm micro-propagation via organogenesis. In: Jain, S.M., Al-Khayri, J.M., Johnson, D.V., (Eds). pp. 69-90. Date Palm Biotechnology. Springer. Dordrecht.
- Aberlenc-Bertossi, F. 2010. Biotechnologies du palmier dattier. Ed IRD, Paris.
- Abohatem, M., Zouine, J., EL Hadrami, I. 2011. Low concentrations of BAP and high rate of subcultures improve the establishment and multiplication of somatic embryos in date palm suspension cultures by limiting oxidative browning associated with high levels of total phenols and peroxidase activities. *Scientia Horticulturae*, 130:344-348.
- Aissam, S. 1990. Observations histologiques sur l'organogenèse et le développement des bourgeons du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) en culture *in vitro*. Thèse de 3ème cycle de physiologie Végétale. Université Cadi Ayyad. Faculté des sciences de Marrakech. 99 p.
- Al-Harrasi, A., Rehman, N.U., Hussain, J., Khan, A.L., Al-Rawahi, A., Gilani, S.A. 2014. Nutritional assessment and antioxidant analysis of 22 date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties growing in Sultanate of Oman. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 7, S59.
- AL-Khateeb, A.A. 2008. The problems facing the use of tissue culture technique in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Scientific Journal of King Faisal University.* 9:85-104.
- Al-Khayri, J.M. 2001. Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in Vitro Cell Dev Biol Plant* 37: 453-456.
- Al-Khayri, J.M. 2005. Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) In: Jain, S.M., Gupta, P.K., (eds.) *Protocols for somatic embryogenesis in woody plants.* Springer. Netherlands, pp 309–319.
- Al-Khayri, J.M., Al-Bahrany, A.M. 2001. Silver nitrate and 2 isopentyladenine promote somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Sci Hort* 89:291–298.
- AL-Mayahi, A.M.W. 2016. Effect of red and blue light emitting diodes “CRB-LED” on *in vitro* organogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Alshakr. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 32:160.
- Almusawi, A.H., Alshnawa, A.S. M., Alkhalifa, A.A.S., Almesfer, R.F.T. 2015. Induction of direct somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Hellawi. *AAB Bioflux* 7(2):80-89.
- Amer, W.M. 1994. Taxonomic and documentary study of food plants in Ancient Egypt. Ph.D. Thesis, Cairo University. Egypt. [<http://www.levity.com/alchemy/islam08.html>].

Références bibliographiques

- Anonymous. 1989. La multiplication "*in vitro*" conforme du Palmier dattier. Groupement de recherche français sur le Palmier dattier. 80 pp.
- Antoine, C.P., Sophie, R., Gilles, C. 2019. Totipotence et culture cellulaire végétale. CCDMD. Québec, Canada.
- Asemota, O., Eke, C., Odewale, J. 2007. Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro* morphogenesis in response to growth regulators, sucrose and nitrogen. African Journal of Biotechnology 6: 2353-2357.
- Aslam, J. 2011. Somatic embryogenesis, scanning electron microscopy, histology and biochemical analysis at different developing stages of embryogenesis in six date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars. Saudi Journal of Biological Sciences. 18:369-380.
- Ataf, M et Mohammed, N. 1998. Palmier dattier sa culture et production dans le monde arabe. Ed : Manchate EL-Maârib. 120p.
- Augé, R., Beauchesne, G., Boccon-Gibod, J., Decourtye, L., Digat, B., Jalouzot, R., Munier, R., Morand, J-Cl., Reynoird, J.P., et Strullu, D.G. 1989. La culture *in vitro* et ces applications horticoles. 3ème édition revue. Corrigée et augmentée. Ed. Tec et Doc. Lavoisier 225p.
- Babahani, S. 1991. Caractéristiques et évolution des palmiers mâles (Dokkar) de la collection de Hassi Abdallah. Thèse Ing I.T.D.A.S. Ouargla. 197p.
- Bajaj Y.S.P. 1987. Biotechnologie in agriculture and Forest .*in* amélioration des espèces cultivées .A.Gallais et Bernneret ,1992.pp225.
- Barthélémy, D., Caraglio, Y. 2007. "Plant Architecture": A dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny". Annals of Botany. 99: 375-407.
- Beauchesne, G. 1988 : La culture "*in vitro*" du Palmier dattier. Données techniques sur la multiplication par organogénèse. C.R. Premier Séminaire Maghrébin sur la culture "*in vitro*" du Palmier dattier, Projet de lutte contre le Bayoud FAO/PNUD/RAB/88/024. Marrakech. Maroc. 24-27 Mai 1988, 15-18.
- Belguedj, M. 2002. Les ressources génétiques du palmier dattier : caractéristiques des cultivars de dattier dans les palmeraies du Sud-Est Algérien. Revue annuelle de l'INRAA N°1/2002. 28-289.
- Belguendouz, R. 2011. Etude de la teneur en protéines et phosphore des feuilles de jeunes plantes d'agrumes sous serre non éclairée en relation avec la pullulation du pou noir de l'oranger : *Parlatoria ziziphi* (Hemiptera, Diaspididea) en Mitidja. Sup Agro-Montpellier. France. 9ième Conférence internationale sur les ravageurs en Agriculture 25-26-27 Octobre.

Références bibliographiques

- Bhansali, R.R. 2010. Date palm cultivation in the changing scenario of Indian arid zones: Challenges and prospects. *Desert plants*. Springer. P.423-459.
- Bouguedoura, N. 1991. Connaissance de la morphogénèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Etude in situ et *in vitro* du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. Thèse d'état. spécialisation en sciences biologiques. U.S.T.H.B. Alger, U.R.Z.A. d'Alger et CIRAD Montpellier. 201p.
- Cahier de références techniques. 1999. Micropropagation en entreprise, CIDES.
- Chabane, D. 1995. Etude des aptitudes morphogénétiques de divers explants des rejets du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) chez deux variétés Takerbucht et Deglet nour pour produire une embryogenèse somatique. Thèse de Magister. USTHB. Alger. 103 p.
- Chao, C.T. et Krueger, R.R. 2007. The Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.): Overview of Biology, Uses and Cultivation. *HortScience* 42 (5): 1077-1082.
- Christophe, H., Musy, A. 2004. Hydrologie, une science de la nature. Coll. Gérer l'environnement. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne. 314 p.
- Daguin, F., et Letouze, F. 1988. Régénération du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par embryogenèse somatique: amélioration de l'efficacité par passage en milieu liquide agité. *Fruits*, 43 (3), 191-194.
- Daher, M.A. 2010. Détermination du sexe chez le palmier dattier : approches histocytologiques et moléculaires. Thèse de doctorat. Université de Montpellier 2. Montpellier. France.
- Daikh, H., & Demarly, Y. 1987. Résultats préliminaires sur l'obtention d'embryons somatiques et la réalisation de semences artificielles de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) *Fruits*. 42(10), 593-596.
- Delvesco, L.L., Guerra, P.M. 2001. The effectiveness of nitrogen source in Feijoa somatic embryogenesis *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 64:19-25.
- Djerbi, M. 1994. Précis de phœniciculture. Ed. FAO, 192p.
- Drira, N., Benbadis, A. 1985. Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par la réversion, en culture *in vitro*, d'ébauches florales de pieds femelles. *Plant Physio*. 119, 227-235.
- Dutuit, P., et Gorenflot, R. 2008. Glossaire pour le développement durable : des mots pour les maux de la planète. Ed des archives contemporaines. 182p.
- Duval, Y., Engelmann, F., Durand-Gasselien, T. 1995. Somatic embryogenesis in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq). In: Bajaj, Y.P.S., (ed.) *Somatic embryogenesis and synthetic seed*. vol 1. Springer Verlag. Berlin/Netherlands. pp 235–352.

Références bibliographiques

- El Hadrami, I., Baaziz, M. 1995. Somatic embryogenesis and analysis of peroxidases in *Phoenix dactylifera* L. *Biologia plantarum* 37.2: 197-203.
- EL Hadrami, L., EL Bellaj, M., EL Idrissi, A., J'Aiti, F., EL Jaafari S., et Daayf, F. 1998. Biotechnologies végétales et amélioration du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) pivot de l'agriculture oasienne Marocaine. Réseaux transnationaux d'amélioration des plantes utilisant les biotechnologies.
- El Bellaj, M., El Jaafari, S. 2000. L'AIA oxydase : régulateur et marqueur potentiel de l'embryogenèse somatique chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Cahiers Agriculteurs*, 9, 193-195.
- El-Assar, A.M., El Messeih, W.M., El Shenawi, M.R. 2004. Applying of some natural extracts and growth regulators to culture media their effects on " Sewi "cv. date palm tissues grown *in vitro*. *Assuit J Agric Sci.*168–35:155
- Eshraghi, P., Zaghani, R., Mirabdulbaghi, M. 2005. Somatic embryogenesis in two Iranian date palm cultivars. *Afr J Biotechnol* 4: 1309-1312.
- Evans, K.F., Burford, R.O. and King, G.C.P. 1981. Propagating episodic creep and the aseismic slip behavior of the Calaveras fault north of Hollister. California. *Journal of Geophysical Research* 86:doi: 10. 1029/JB086iB05p03721. Issn: 0148-0227.
- Fergani, K. 1998. Embryogenèse somatique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar Daglet nur. Thèse de Magister. U.S.T.H.B Alger .131P.
- Fki, L. 2005. Application des suspensions cellulaires embryogenèse au clonage et à l'amélioration *in vitro* du palmier dattier. Thèse doctorat. Faculté des sciences de Sfax-Tunisie.
- Fki, L., Masmoudi, R., Drira, N et Rival, A. 2003. An optimised protocol for plant regeneration from embryogenic suspension cultures of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Deglet Nour. *Plant Cell Reports*. 21: 517-524.
- Fki, L., Masmoudi, R., Kriaã, W., Mahjoub, A., Sghaier, B., Mzid, R., Mliki, A., Rival, A., Drira, N. 2011. Date palm micropropagation via somatic embryogenesis, In SM Jain, JM Alkhayri, DV Johnson, eds, *Date Palm Biotechnology*, Springer, Dordrecht, pp 47-68.
- Fredj, H., Abed, S., Benelbar, H. 2007. La multiplication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par les techniques de culture *in vitro*. Mémoire de fin d'étude. Université de Msila.
- Govaerts, R. et Dransfield, J. 2005. *World checklist of palms*. Kew: Royal Botanic Gardens. Kew. 223 p.
- Guyot, M.J., Seguiet-Guis, M., et Duris, D. 2003. *Terre des cafés*. Ed CIRAD. 141p.

Références bibliographiques

- Haberlandt, G. 2008. la culture *in vitro* de tissus et de cellules végétales. In : histoire et d'épistémologie des sciences de la vie. n^o 2. Volume 15. pages 197 – 217.
- Haicour, R. 2002. Biotechnologie végétale: technique de laboratoire. Ed Tec et Doc. Montréal AUF, (universités francophones ISBN 2-7430-0560-2). 275p.
- Hassan, M.H., Taha, R.A. 2012. Callogenesis, somatic embryogenesis and regeneration of date palm *Phoenix dactylifera* L. cultivars affected by carbohydrate sources. Int J Agric Res 7: 231-242.
- Hazzouri, K.M., Flowers, J.M., Visser, H.J., Khierallah, H.S., Rosas, U., Pham, G.M. 2015. Whole genome re-sequencing of date palms yields insights into diversification of a fruit tree crop. Nat. Commun. 6:8824.
- Ibrahim, I.A., Hassan, M.M., Taha, R.A. 2012. Partial desiccation improves plant regeneration of date palm *in vitro* cultures. Wudpecker J Agric Res 1: 208-214.
- Jay-Allemand, C., Capelli, P., et Cornu, D. 1992. Root development of *in vitro* hybrid walnut microcutting in vermiculite containing gelrite medium. Station d'amélioration des arbres forestiers INRA, 45160. Ardon France. Scienda horticulura. 51(3-4) : 335-342.
- Khan, S., Bi, T.B. 2012. Direct shoot regeneration system for date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Dhakki as a means of micropropagation. Pakistan Journal of Botany. 44(6):1965-1971.
- Khenfar, B. 2004. Contribution à l'étude de quelques caractéristiques
- Khierallah, H.S.M. 2015. Influence of sucrose and pacloburtazol on callus growth and somatic embryogenesis in date palm cv. Bream. International Journal of Current Research and Academic Review. 1:270-276.
- Kim, H.H. 2004. Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red and blue-light-emitting diodes. Horticultural Science . 39:1617-1622.
- Kriaa, W. 2012. The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) micropropagation using completely mature female flowers. Comptes Rendus Biologies. 335:194-204.
- Lachachi, S. 2010. Organogénèse et embryogénèse somatique directe chez la tomate. Thèse de magister. Université d'Oran.
- Linné, C.V. 1753. Species Plantarum, tome 2. Impensis Laurentii Salvii, 776 p.
- Loutfi, K., El Hadrami, I. 2005. *Phoenix dactylifera* Date Palm. General Editor: Gabrielle J. Persley, the Doyle Foundation. Glasgow. Scotland. 144.
- Magnaval, C., Noirot, M., Verdeil, J.L. 1997. Specific nutritional requirements of coconut calli (*Cocos nucifera* L.) during somatic embryogenesis induction. J Plant Phys 159:719–728.

Références bibliographiques

- Marchal, J. 1984. Le palmier dattier végétal dans le control de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales. Ed, Lavoisier. Paris 458. 272p.
- Margara, J. 1989. La multiplication végétative le méristème et l'organogenèse. Ed INRA, Paris. 230p.
- Masmoudi, R. 1999. Embryogenèse Somatique chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) : induction et maintien des structures embryogènes, caractérisation biochimique. Thèse Doct. Fac.Sci.de Sfax,113pp.
- Mason, S.C. 1915. Botanical characters of the leaves of the date palm used in distinguishing cultivated varieties. Bulletin N°223 of the U.S. department of agriculture. Washington. 28p.
- Mazri, M.A., Meziani, R. 2015. Micropropagation of Date Palm: A Review. Cell and Developmental Biology. 4:160.
- Mccubbin, M.J., Zaid, A. 2007. Would a combination of organogenesis and embryogenesis techniques in date palm micro-propagation be the answer?. Acta Horticulturae. 736:255-259.
- Merkle, S.A., Parrott, W.A., Williams, E.G. 1990. Applications of somatic embryogenesis and embryos cloning. In Developments in crops science (Vol. 19, pp. 67-101).
- Meziani, R. 2015. Effects of plant growth regulators and light intensity on the micro-propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Mejhoul. Journal of Crop Science and Biotechnology. 18:325-331.
- Morel, G. 1952. Guérison de dahlias atteits de maladie à virus. C.R. Acad. SCI.Paris.235 :1324_1325
- Munier, P. 1973. Le palmier dattier. Maisonneuve & Larose. Paris.
- Naik, P. M., AL-Khayri, J. M. 2016. Somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) through cell suspension culture. In: JAIN, S. M. Protocols for *in vitro* cultures and secondary metabolite analysis of aromatic and medicinal plants, 2nd ed. Methods in molecular biology. New York: Springer, 1391:357-366.
- Newton, G.L., Sheppard, D.C., Burtle, G. 2008. Black soldier fly prepupae: a compelling alternative to fish meal and fish oil. Public comment on alternative feeds for aquaculture. NOAA 15/11//2007 - 29/2/2008.
- Norrel, B. 1973. Cultures de tissus végétaux et embryogenèse non zygotique. Soc. Bot mémoire. coll Morphologie. pp 71 - 98.
- Nowbuth, L., Le, C. 2005. Teneur non- conforme en ADN comme indicateur de variation soma clonale chez la pomme de terre. Agroscope RAC changines. suisse agric .37 (6):257-266p.

Références bibliographiques

- Nozeran, R., Benalhon, 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.
- Odyssé, J. 2015. Le palmier dattier. Retrieved April 21, 2015, from <http://www.relais>.
- Osuga, K., Masuda, H., Komamine, A., Gessin, J.C. 1999. Synchronization of somatic embryogenesis at high frequency using carrot suspension culture: model systems and applications in plant development Methods in cell science. 21(2), 129-140.
- Othmani, A., Bayouhd, C., Drira, N., Marrakchi, M., Trifi, M. 2009. Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm *Phoenix dactylifera* L., cv. Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic callus. Plant Cell Tiss Organ Cult 97: 71-79.
- Peyron, G. 2000. Cultiver le palmier dattier. CIRAD. Montpellier. France, 110 p.
- Pintaud, J.C., Zehdi, S., Couvreur, T., Barrow, S., Henderson, S., Aberlenc-Bertossi, F., Tregear, J. et Billotte, N. 2010. Species delimitation in the genus Phoenix (Arecaceae) based on SSR markers, with emphasis on the identity of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.). In Seberg, O., Petersen, G., Barfod, A., et Davis, J. (Ed.). Diversity. Phylogeny and evolution in the Monocotyledons. Aarhus University Press: 267-286.
- Poulain, C., Rhiss, P et Beaushesine, G. 1979. Multiplication végétative en culture *in vitro* du palmier dattier. C. R. Agric. France. 1151-1154.
- Reinert, J. 1958. Morphogenesis and plantlets growth of date palm (*phoenix dactylifera* L.) derived from callus tissue. Plant physiol. Suppl., 63, 138.
- Reuvei, O., et Kipnis, H.L. 1974. Embryogenesis and plantlets growth of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) derived from callus tissues. Plant physiol. (Suppl). 63: pp: 138.
- Reynolds, J., et Murashige, T. 1979. Asexual embryogenesis in callus cultures of date palms *in vitro*. 15 (5), pp: 385-387.
- Rival, A. 2010. Palmier à huile, palmier dattier : deux cultures stratégiques, Ecologie. Vol 315. Paris.
- Rousselle P., Yvon R. et Crosnier, R. 1996. La pomme de terre: production, amélioration, ennemis et maladies. Ed INRA, 640p.
- Saka, H., et Abed, F. 1989. La multiplication *in vitro* du palmier dattier par embryogénèse somatique. In: C.R. du deuxième séminaire maghrébin sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques *in vitro*. FAOI PNUDI RABI 081 024. INRA, Marrakech, 9-12 Octobre 1989, pp: 71-73.

Références bibliographiques

- Scriban, R. 1988. Biotechnologie. 3ème édition revue, corrigée et augmentée. Ed. Tec et Doc. Paris 400p
- Sedra, My.H. 1985. Potentiel infectieux et réceptivité de quelques sols de palmerais à la fusariose vasculaire du palmier dattier (Bayoud) causé par le *Fusarium oxysporum* f.sp. albedinis. Thèse de 3ème cycle. Inst. Agro. Vété. Hassan II-Rabat-Maroc. 88pp.
- Sedra, My.H. 2003. Le bayoud du palmier dattier en Afrique du nord, FAO, RNE/SNEA-Tunis. Edition FAO sur la protection des plantes. Imprimerie Signes, Tunis, Tunisie, 125p.
- Selmani, C., Chabane, D., et Bouguedoura, N. 2013. Production of somatic embryos of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) from cell suspension. In l'Inernaional Symposium on Date Palm 994. (pp. 331-337).
- Sghaier, B., Bahloul., Gargouri., Bouzid, R., Drira, N. 2008. Development of zygotic and somatic embryos of *Phoenix dactylifera* L. cv. Deglet Nour: Comparative study. Scientia horticulturae, vol. 116, (2): 169-175.
- Shabana, H., Al-Ani, B., & Zaid, A. 2010. On the status of chromosomes of the date palm (*phoenix dactylifera* L.). In IV International Date Palm Conference 882 (pp. 253– 268). Retrieved from http://www.actahort.org/books/882/882_28.htm.
- Sharma, D.R., Deepak, S., Chowdhury, J.B. 1986. Regeneration of plantlets from somatic tissues of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Indian Journal of Experimental Biology. 24:763-766.
- Sharp, W.R., Sendhal, M.R., caldas, L.S., Maraffa, S.B. 1980. The physiology of *in vitro* asexual embryogenesis .
- Sibi, M. 1981. Héredité de variants épi géniques obtenus par culture des tissus *in vitro* chez les végétaux supérieurs. Thèse Doct ès Sci. Univ Paris R'Sud. Orsay, 280 p.
- 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.
- Steward, F.C., Marion, O.M., Mears, K. 1958. Growth and organized development of cultured cells II. Organization in cultures grown from freely suspended cells. Am J Bot 45:705-708.
- Sudhersan, C., Abo El-Nil, M.M., Al-Baiz, A. 1993. Occurrence of direct embryogenesis on the sword leaf of *in vitro* plantlet of *Phoenix dactylifera* L. cultivar barhee. Curr Sci 65(11):887-889.
- Tabti, D. 2010. Régénération *in vitro* des plants sains à partir d'apex caulinaires d'olivier *Olea europea* L. var. Chemlal.

Références bibliographiques

- Teixeira, J.B., Sondahl, M.R., Nakamura, T., Kirby, E.G. 1995. Establishment of oil palm cell suspensions and plant regeneration. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 40:105–111.
- Tirichine, H.S. 2010. Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est Algérien. Doctoral dissertation. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
- Tisserat, B., Demason, D.A. 1980. A histological study of development of adventive embryos in organe cultures of (*Phoenix dactylifera* L.). *Ann. Bot.*, 46, 465-472.
- Tisserat, B. 1979. Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro*. *Journal of Experimental Botany*, 30:1275-1283.
- Verdeil, J., Buffard-Morel, J. 1995. Somatic embryogenesis in coconut (*Cocos nucifera* L.). In: Bajaj, Y.P.S., (ed.) *Somatic embryogenesis and synthetic seed*, vol 1. Springer. Berlin, pp 299-317.
- Vidalis, H., Augé, R., Beauchesne, G. 1989. La culture *in vitro* et ses applications horticoles. Lavoisier, Tec et Doc (ed). 7- 24.
- Vives, M.S. 2018. [Place of publication not identified] : Editorial De Vecchi, Livre numérique. Palmeras. elección y cuidados.
- Wrigley, G. 1995. Date palm. In Smartt, J., et Sininonds, N.W., 1995. *Evolution of crop plants*. 2nd ed. Longman Group. Essex. UK. pp: 399-403.
- Zaid, A., Arias-Jimenez, E.J. 2002. Date palm cultivation. FAO plant production and protection paper. 156, rev.1. FAO. Rome.
- Zaid, A., DE Wet, P.F. 2002. Climatic requirements of date palm, In Zaid, A., 2002. *Date palm cultivation*. Food and Agriculture Organization Plant Production and protection of the United Nations. Rome. Italy, 156: 57-72.
- Zango, O. 2016. Agro biodiversité et élaboration d'un modèle architectural du palmier dattier au Sahel : cas du Sud Niger. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier et l'Université Abdou Moumouni. Ecologie Fonctionnelle et Sciences Agronomiques Montpellier. 203P.
- Zango, O., Littardi, C., Pintaud, J.C. and Rey, H. 2013. Comparative Study of Architecture and Geometry of the Date Palm Male and Females Inflorescences. *Acta Horticulturae*. 994, 175-192.
- Zouine, J., El Hadrami, I. 2007. Effect of 2, 4-D, glutamine and BAP on embryogenic suspension culture of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Sci Hortic* 112: 221-226. 30.

Références bibliographiques

المراجع العربية

- الشرباصي شريف. (2018). الدليل المصور في زراعة وخدمة نخيل البلح والتمور . مصر، منظمة الأغذية و الزراعة/ مصر. 124 صفحة.
- المياحي أحمد ماضي وحيد. 2008. اثمار بعض اصناف نخيل تمر نادر عبر تقنية زراعة مخبرية . اطروحة دكتوراه .كلية الزراعة .جامعة البصرة .130 صفحة.
- شرباش محمود توفيق . (2009). أساسيات زراعة الأنسجة النباتية. القاهرة ، دار المعارف . 227 صفحة .

Les sites

- (<http://labos.ulg.ac.be/>)
- (<http://quimicaalkano.com/>).
- (<https://ar.aliexpress.com/>)