



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE** Ministère de l'Enseignement Supérieur et de
La Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou



Faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomiques
Département de Biologie

Mémoire

De fin d'études

En vue de l'Obtention du
Diplôme de MASTER en biologie
Spécialité : Génétique et amélioration des plantes

Thème :

*Inductions morphogénétiques des Embryons et
des Extrémités cotylédonaires du Palmier
dattier (*Phoenix dactylifera* L.)
Var. Deglet-Nour*

Présenté par :

M^{elle} YAHIAOUI LYDIA

Devant le Jury :

Promoteur : S. YAKOUB-BOUGDAL

Professeur

U.M.M.T.O

Président : M^{me} F. Medjdoub

Professeur

U.M.M.T.O

Examinatrice : M^{me} L. LAKABI

Maitre Assistante A

U.M.M.T.O

Examinatrice : M^{me} H. BOUAZIZ- YAHIATENE

Maitre Assistante A

U.M.M.T.O

Promotion : 2016

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je remercie Le Bon Dieu pour m'avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience afin de surmonter toutes les difficultés.

Je tiens à exprimer ma gratitude et mes vifs remerciements à ma

*Promotrice **Pr Yakoub-Bougdal** pour la confiance qu'elle ma témoignée en me proposant ce sujet, sa gentillesse, surtout sa patience, ses encouragements et sa compréhension tout au long de ce travail, merci beaucoup madame.*

C'est avec un grand honneur, j'adresse mes vifs remerciements

Et mon profond respect aux membres du jury qui ont bien voulu accepter de nous honorer par leurs présences et examiner mon travail :

M^{me} Medjdoub Professeure U.M.M.T.O.

M^{me} L. Lakabi Maître Assistante A , U.M.M.T.O,

M^{me} Bouaziz-Yahiatene Maître Assistante A. U.M.M.T.O

et Nos sincères remerciements à tous personnel de laboratoire de biomédicale (CIV) Faculté de médecine

Mouloud Mammeri

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué, de loin ou près, à l'accomplissement de ce travail

Titre de la figure

page

| | |
|---|-----------|
| Figure 1 : Schéma du palmier dattier, Munier, 1973. | 6 |
| Figure 2 : Représentation schématique d'une partie souterraine d'un palmier dattier.(Zaid,2001). | 8 |
| Figure 3 :Jeune plante de <i>Phoenix</i> var Deglet-Nour âgée de deux mois, Yakoub-Bougdal, 1984 | 9 |
| Figure 4 : Système racinaire du Palmier dattier, après 64 jours de germination, Jrad, 2012 | 10 |
| Figure 5 : Palme 'feuille d'un Palmier adulte, D'après Munier, 1973. | 12 |
| Figure 6 : Coupes longitudinale du fruit : la datte gr x I. Yakoub-Bougdal, 1984 | 13 |
| Figure 7 :Coupe transversale (a) et longitudinale (b) de la graine sèche (dessin Gr x I).Yakoub –Bougdal, 1984 | 14 |
| Figure 8 : Germination de la graine et développement de la jeune plante du Palmier dattier.Yakoub-Bougdal, 1984. | 19 |
| Figure 9 : Graines var. Deglet –Nour séchées. | 29 |
| Figure10 : Etuve contenant le matériel à stériliser à 127 ⁰ C | 30 |
| Figure 11 : Schéma résumant les différentes étapes du protocole expérimental | 31 |
| Figure12 : Hotte à flux laminaire horizontale. | 35 |
| Figure 13 : Préparation des graines pour la germination en conditions stériles | 35 |

Liste des tableaux

| | <i>Page</i> |
|--|-------------|
| Tableau 1 : Le cycle végétatif annuel du palmier dattier, Belguedj, 2002. | 15 |
| Tableau 2 : Inventaire variétal (cultivar) dans les trois régions phoenicicoles Algérie Benkhalifa et <i>al.</i> , 2010. | 16 |
| Tableau 3 : Principaux travaux de culture <i>in-vitro</i> (embryogenèse somatique) sur Palmier dattier. Berrichi et <i>al.</i> , 2013. | 23 |
| Tableaux 4 :Composition du milieu Murashige et Skoog (1962) | 27 |
| Tableaux 5 :Composition des macroéléments utilisés dans le milieu de base de Murashige et Skoog | 33 |
| Tableau 6 : Composition des microéléments utilisés dans le milieu de base de Murashige et Skoog. | 33 |
| Tableau 7 :Composition de la solution vitaminique de MS de base de Murashige et Skoog | 34 |
| Tableau 8 : Taux de germination, contamination ainsi que de nécrose des graines du Palmier dattier <i>Phoenix dactylifera L.var</i> Deglet-Nour | 40 |
| Tableau 9 : pourcentage de contamination, de nécrose et de survie sur le milieu MS10 et MS/2. | 43 |
| Tableau 10 :Etapes et développement des embryons sur le milieu MS ₁₀ | 46 |

Liste des planches

| | <i>Page</i> |
|--|-------------|
| Planche 1 : Différentes étapes d'extraction des embryons | 33 |
| Planche 2 : Etapes d'extraction des extrémités de pétiole cotylédonaire | 34 |
| Planche 3 : Développement des embryons de Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) var Deglet-Nour, sur le milieu MS ₁₀ en fonction du temps | 35 |
| Planche 4 : Différents stades de la germination des graines de Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) var. Deglet-Nour, (Laboratoire CIV, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2016), | 37 |
| Planche 5 : Développement des embryons de Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) var Deglet-Nour, sur le milieu MS ₁₀ en fonction du temps | 39 |
| Planche 6 : Développement des extrémités cotylédonaires de Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L.</i>), var Deglet-Nour sur le milieu MS ₁₀ en fonction du temps. | 40 |
| Planche 7 : Développement des embryons de Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L.</i>), var Deglet-Nour sur le milieu MS/2 en fonction du temps | 42 |
| Planche 8 : Développement des extrémités cotylédonaires sur MS/2 | 42 |

Sommaire

| | |
|--|----|
| Introduction | 01 |
| Partie I : synthèse bibliographique | |
| Chapitre I : Généralités sur le Palmier dattier (<i>Phoenix dactylifera L.</i>) | |
| 1. Présentation de l'espèce | 03 |
| 2. Origine | 03 |
| 3. Taxonomie | 04 |
| 4. Classification | 04 |
| 5. Morphologie | 05 |
| 6. Description générale | 07 |
| 6.1. Système racinaire | 07 |
| 6.2. Appareil végétatif | 11 |
| 6.2.1. Tronc ou stipe | 11 |
| 6.2.2. Bourgeons | 11 |
| 6.2.3. Feuilles | 11 |
| 6.3. Appareil de reproduction | 12 |
| 6.3.1. Spathes ou inflorescences | 12 |
| 6.3.2. Fleurs | 12 |
| 6.3.3. Fruit | 13 |
| 6.3.4. Graine | 14 |
| 6.4. Cycle végétatif annuel | 15 |
| 7. Multiplication | 15 |
| 8. cycle de développement | 17 |
| Chapitre II : Culture <i>in-vitro</i> | |
| 1. Définition | 20 |
| 2. Historique | 21 |
| 3. Différentes techniques de la CIV | 22 |
| 4. Condition de culture | 24 |
| 5. Techniques de réalisation de la culture <i>in-vitro</i> | 25 |
| 6. Avantages de la culture <i>in vitro</i> | 29 |

Sommaire

Parti II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Matériel végétal | 30 |
| 2. Matériel du laboratoire | 31 |
| 3. Protocole expérimental | 32 |
| 4. Technique expérimentale | 33 |
| 4.1. Conditions d'asepsie totale | 33 |
| 4.2. Préparation du milieu de culture | 33 |
| 4.3. Ensemencement des graines | 35 |
| 5. Extraction du matériel végétal | 37 |
| 5.1. Embryons | 37 |
| 5.2. Extrémités cotylédonaires | 39 |
| 6. Repiquage des embryons et des extrémités cotylédonaires | 40 |
| 6.1. Repiquage sur milieu MS ₁₀ | 40 |
| 6.2. Repiquage sur milieu MS/2 | 40 |

Chapitre II Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| 1. Germination in- vitro des graines du Palmier dattier <i>Phoenix dactylifera L. var.</i> Deglet-Nour | 41 |
| 1.1. Modes d'expressions de la germination | 41 |
| 1.2. Morphologie de la germination | 43 |
| 2. Culture des extrémités cotylédonaires et des embryons | 44 |
| 2.1. Milieu MS ₁₀ | 44 |
| 2.2. Milieu MS/2 | 47 |

| | |
|-------------------|----|
| Discussion | 50 |
|-------------------|----|

| | |
|-------------------|----|
| Conclusion | 52 |
|-------------------|----|

| | |
|------------------------------------|--|
| Références bibliographiques | |
|------------------------------------|--|

A decorative border of palm trees surrounds the page. The border consists of a top row of 15 palm trees, a bottom row of 15 palm trees, and two vertical columns of 15 palm trees each on the left and right sides. The palm trees are stylized with green fronds and brown trunks.

Introduction

Introduction

Le palmier dattier constitue l'élément fondamental de l'écosystème oasien. Il joue un rôle primordial sur le plan économique grâce à la production de la datte et des sous-produits (pâtes, farine, vinaigre,...). Ces derniers représentent la base de l'alimentation humaine et animale des régions sahariennes, Garomouche et Boutali, 2009. L'Algérie est un pays phoenicicole classé au sixième rang mondial et au premier rang dans le Maghreb pour ses grandes étendues de cultures avec 160 000 ha et sa production annuelle moyenne de dattes de 500 000 tonnes, Benkhalifa et *al.*, 2008.

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

Ainsi, des recherches qui visent la maîtrise des processus morphogénétiques chez le dattier par le biais des techniques de culture *in vitro* peuvent contribuer à résoudre ce problème. L'embryogenèse somatique a suscité de l'intérêt, Tisserat et Demason, 1980 ; Daguin et Letouzé, 1988. Les techniques de la culture *in-vitro* permettent l'obtention rapide d'un grand nombre de plants, génétiquement conformes et indemnes de maladies.

La même étude a été réalisée sur *Olea europea* var. Chemlal, collaboration du P^rYakoub-Bougdal avec le labo de Paris VI, depuis 2009.

Ainsi notre objectif est de voir si le développement caulogène à partir des explants racinaires d'une monocotylédone est similaire à la dicotylédone.

Lemémoire est aussi structuré en deux parties. La première partie de ce travail est constituée de deux chapitres, une analyse bibliographique de l'espèce, des travaux liés à la culture in-vitro.

Dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel végétal et les méthodes utilisées dans notre expérimentation.

A decorative border of palm trees surrounds the page. The border consists of a top row of 15 palm trees, a bottom row of 15 palm trees, and vertical columns of 15 palm trees on the left and right sides. The palm trees are stylized with green fronds and brown trunks.

Première Partie

Chapitre I : Généralités sur le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.)

Présentation de l'espèce :

Le Palmier dattier est une monocotylédone, dioïque, pérenne, à croissance lente. Il comporte des pieds mâles (*dokkar/amersid*) et des pieds femelles (*nakhla/tazdait*), Bekkaye, 2006. Il se multiplie aussi bien par semis de graines (noyaux) que par plantation de rejets, Munier, 1973, Ben Abdallah 1990 ; Zaidi ,2002.

Ses caractéristiques dépendent du milieu, de l'âge et des conditions culturales, Dawson et Aten, 1963 ; Munier, 1973 et Bouguedoura, 1991. Il peut atteindre 30 m de haut, Bouguedoura, 2011.

2. Origine :

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) est une plante fruitière anciennement cultivée par l'homme, Battesti, 2004.

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

Selon Barrow, 1998 et Dransfield et al., 2008, le genre *Phoenix dactylifera* est vraisemblablement originaire d'Europe et d'Asie occidentale.

Le palmier dattier est connu depuis l'Antiquité ; il ya 6000 ans. En 1998, d'après Barrow on ne possédait aucune information sur l'existence de la forme sauvage de ce dernier, mais récemment, la génétique a démontré que le dattier a été domestiqué à partir de *Phoenix dactylifera* sauvage, Pintaud et al.2010.

La diversité morphologique a été appréhendée par le biais d'une étude morphométrique qui a également permis d'identifier les morphotypes anciens grâce à l'étude de restes archéologiques, Terral et al., 2012.

La multiplication du Dattier était connue des Assyriens et des Chaldéens qui savaient détruire les pieds mâles d'une oasis afin d'affamer leur ennemi, Anonyme, 2013.

3. Taxonomie :

Le Palmier dattier, dénommé *Phoenix dactylifera* L, par Linné en 1753, Munier, 1973 , où Phoenix (arbres des Phéniciens) nom du dattier chez les Grecs, « dactylifera » vient du latin « dactylus » dérivant du Grecs « daktulos », qui signifie doigt, Munier, 1973.

Selon les travaux les plus récents le genre *Phoenix* appartenant à la famille des Phoeniceae, et comporte 14 espèces, Pintaud et al., 2011.

4. Classification :

La classification de Cronquist, 1981 est basée sur des critères de ressemblances morphologiques, anatomiques et chimiques et permet de réunir dans des groupes communs les végétaux qui présentent un nombre élevé de ressemblances.

Elle a permis d'établir, pour le dattier, l'ordre hiérarchique suivant (Tab. I). la classification phylogénétique ou APG (Angiosperm Phylogeny Group), fondée sur des critères moléculaires permet d'établir l'enchaînement entre les groupes les plus primitifs aux plus évolués.. Elle est basée essentiellement sur l'analyse des séquences de gènes chloroplastiques (APG I, 1998 et APG III, 2009 : modification de APG II, 2003) qui respecte l'ordre établi précédemment (Tab. I)

Tableau 1 : Classification du Palmier dattier d'après Munier (1973), Cronquist (1981) et l'APG III (2009), est comme suit :

- Classification de Munier

Selon Munier ,1973, la classification du Palmier dattier est

| | |
|-------------------------|------------------|
| Embranchement | Phanérogames. |
| Sous-embranchement..... | Angiospermes. |
| Classe | Monocotylédones. |
| Groupe | Phoenocoides. |
| Famille | Areceaceae. |
| Sous-famille..... | Coryphoideae. |

| | |
|-------------|-------------------------------|
| Genre..... | <i>Phoenix.</i> |
| Espèce..... | <i>Phoenix dactylifera L.</i> |

- Classification de Cronquist

Selon Cronquist, 1981, la classification du Palmier dattier est

| | |
|-------------------|-------------------------------|
| Règne | Plantae. |
| Sous-règne..... | Tracheobionta. |
| Division | Magnoliophyta. |
| Classe..... | Liliopsida |
| Sous-classe..... | Arecidae. |
| Ordre..... | Arecales. |
| Famille..... | Arecaceae. |
| Sous-famille..... | Coryphoideae. |
| Genre | <i>Phoenix.</i> |
| Espèce..... | <i>Phoenix dactylifera L.</i> |

- Classification phylogénétique

La classification APG III, 2009 est

| | |
|-------------|----------------|
| Règne | Plantae. |
| Clade | Tracheobionta. |
| Clade | Magnoliophyta. |
| Clade | Liliopsida. |
| Clade | Arecidae. |

| | |
|--------------|-------------------------------|
| Clade | Arecales. |
| Clade | Commelinidees. |
| Clade | Coryphoideae. |
| Genre | <i>Phoenix</i> . |
| Espèce | <i>Phoenix dactylifera L.</i> |

6. Morphologie :

Le Palmier Dattier est une plante monocotylédone à croissance apicale dominante. Le diamètre du tronc de l'arbre demeure généralement stable sous les mêmes conditions à partir de l'âge adulte.

C'est un grand palmier de 20 à 30 m de haut, au tronc cylindrique (stipe), portant une couronne de feuilles, les feuilles sont pennées divisées et longues de 4 à 7 m. L'espèce est dioïque et porte des inflorescences mâles ou femelles, les fleurs femelles aux trois carpelles sont indépendantes, dont une seule se développe pour former la datte [le fruit], Kadi, Hanifi, 2005. Fig. 1 Munier .1973.

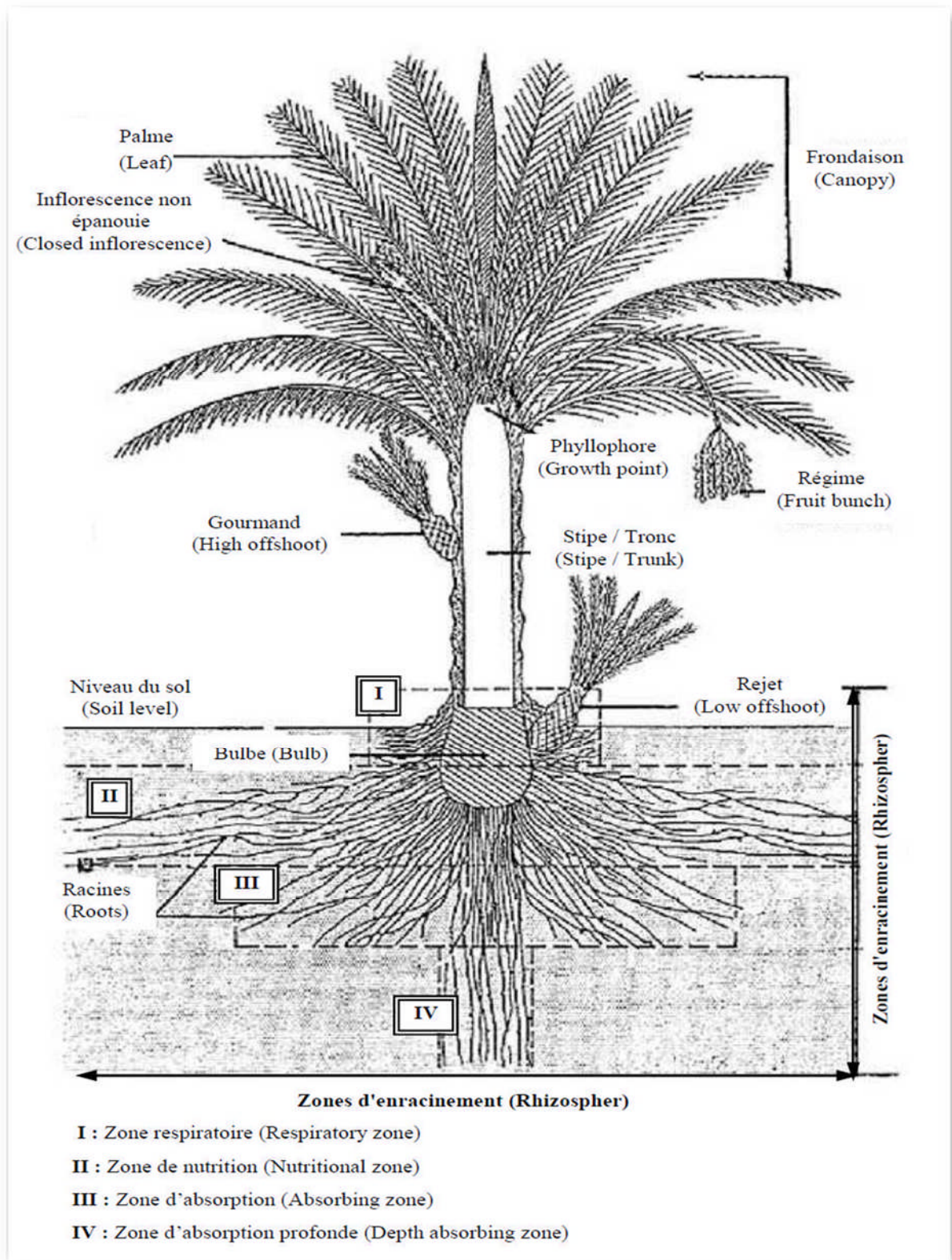


Figure 01: Schéma du palmier dattier, Munier, 1973.

On distingue

- un système racinaire
- un organe végétatif composé du tronc et de feuilles

- un organe reproductif composé d'inflorescences mâles ou femelles, INRA, 2003.

6.1. Système racinaire :

Selon Bouguedoura, 1991, le système racinaire principal est fasciculaire ; il comporte des racines d'ordre I, II et III. Ces racines présentent un géotropisme négatif et remontent en surface. Il est formé de plusieurs types de racines ; les racines de premier ordre émettent très tôt des racines de deuxième ordre, qui émettent à leur tour des racines de troisième ordre et ainsi de suite, Djerbi, 1994. La répartition et la morphologie sont comme suit :

- Les racines de premier ordre :

Sont sensiblement cylindriques sur toute leur longueur, leur extrémité conique ne présente jamais de poils absorbants ; elles prennent toutes naissance à la base du stipe, leur longueur est en moyenne de quatre mètres, mais peut atteindre dix mètres. Leur diamètre varie entre 7 et 12.5 mm, il est en moyenne de 9.5 mm. Ces racines forment un tapis qui couvre de grandes superficies, Djerbi, 1994. Elles permettent les échanges gazeux avec l'air atmosphérique grâce à la présence de nombreux méats aérifères, Fig.2. Zaid, 2001.

- Les racines secondaires :

Apparaissent sur la racine principale qui se développe directement à partir du MAR.

Ces racines produisent des racines latérales de même type avec approximativement le même diamètre sur toute leur longueur, Munier, 1973 et Oihabi, 1991.

Le système racinaire du palmier est dense, formé de plusieurs types de racines dont le diamètre ne dépasse pas 1,5 cm et qui émergent partiellement au dessus du niveau du sol à une hauteur allant jusqu'à 50 cm de la base du tronc. Ces racines, dépourvues de poils absorbants, sont structurées ainsi:

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

Il est possible de distinguer trois types de racines, Zaid, 2001 :

- Les racines respiratoires. localisées à moins de 0,25 m de profondeur qui peuvent émerger sur le sol.
- Les racines de nutrition, allant de 0,30 à 0,40 m de profondeur.

- Les racines d'absorption. qui peuvent rejoindre le niveau phréatique à une profondeur variant d'un mètre à 1,8 m.

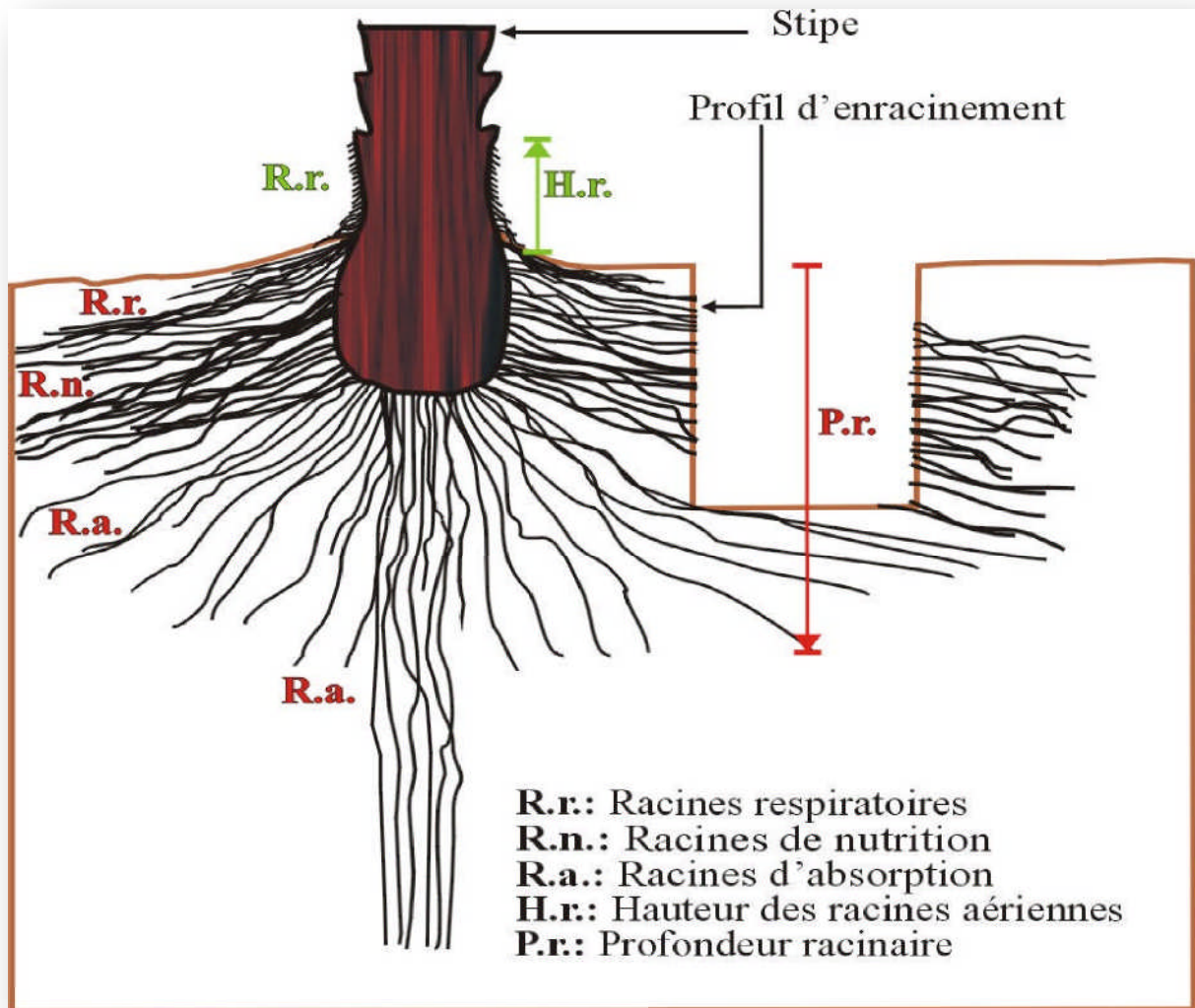


Figure 02 : Représentation schématique d'une partie souterraine d'un palmier dattier. Zaid, 2001

Les jeunes plantes montrent une racine principale et des racines secondaires Fig.3 Yakoub-Bougdal, 1984 ; et des racines tertiaires Fig.4 , Jrad, 2012.

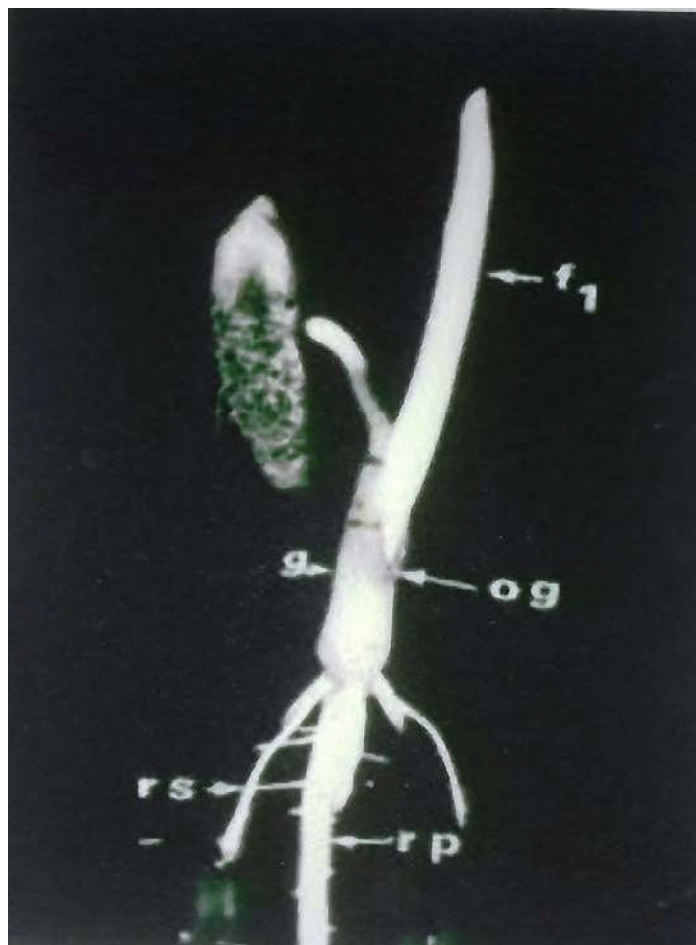


Figure 03 : Jeune plante de *Phoenixvar* Deglet-Nour âgée de deux mois, Yakoub-Bougdal, 1984

f₁ : 1^{ère} feuille

g : gaine

og : ouverture de la gaine

rp : racine principale

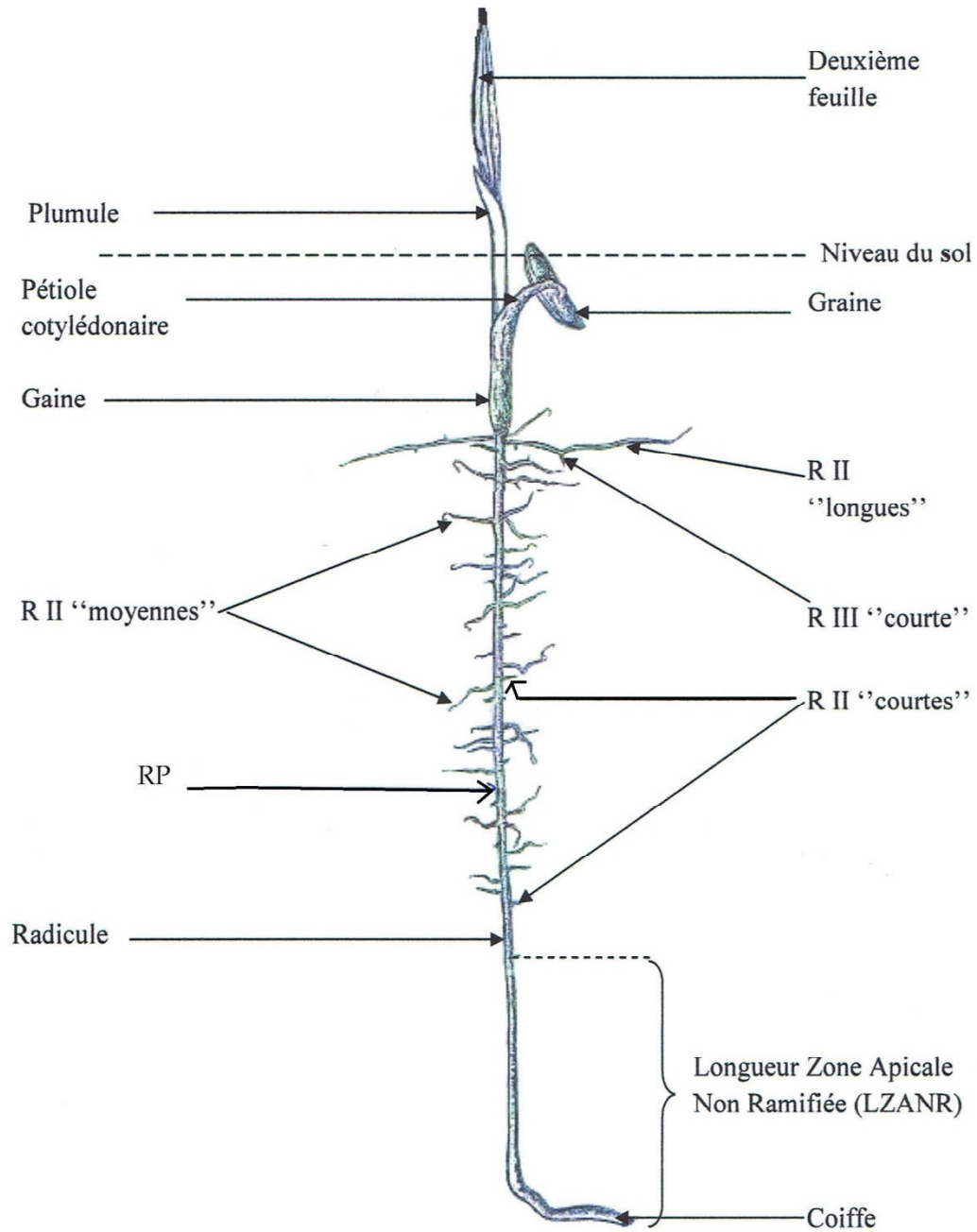


Figure 4: Système racinaire du Palmier dattier, après 64 jours de germination, Jrad, 2012

6.2. Appareil végétatif :

L'appareil végétatif est composé de plusieurs parties :

6.2.1. Tronc ou stipe :

Le tronc cylindrique appelé aussi stipe ou tige, est non ramifié, lignifié et de couleur marron brun. Le tronc est généralement, monopodique et recouvert à sa surface par la base des palmes coupées 'cornafs', Belguedj, 2002, peut être persistant dans certain cas, recouvertes à leur tour par un fibrillum 'lif' qui correspond aux fibres logées entre le pétiole et le stipe, Belguedj, 2002.

Les cicatrices de la base des feuilles restent visibles pendant des années. Quelquefois, certains cultivars peuvent avoir une forme du tronc conique, mais jamais ramifié. Sa hauteur peut atteindre plus de 30 mètres, Moulay, 2003.

6.2.2. Bourgeons :

A l'aisselle de chaque palme, se trouve un bourgeon axillaire qui peut se développer pour donner naissance à un rejet, à la base du stipe aérien attaché au tronc, dénommé vulgairement 'rkeb' dans la partie basale de l'arbre et une inflorescence dans la partie supérieure, Moulay, 2003.

6.2.3. Feuilles :

Les feuilles sont composées pennées et longues de 4 à 7 cm Fig 5, Munier, 1973. Le palmier dattier produit trois types de feuilles au cours de sa vie :

- Les feuilles juvéniles.
- Les feuilles semi-juvéniles.
- Les feuilles adultes ou palmes in Bouguedoura, 1983.

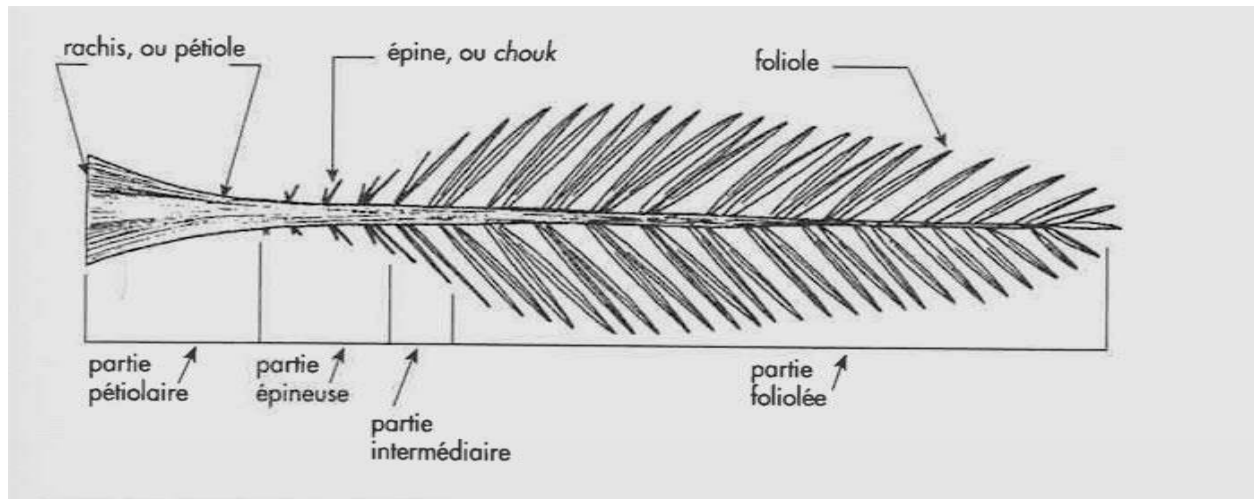


Figure 05 : Palme 'feuille d'un Palmier adulte
, D'après Munier, 1973.

6.3. Appareil de reproduction :

6.3.1. Spathes ou inflorescences :

Le Palmier dattier est une plante dioïque. Les organes de reproduction sont composés d'inflorescences mâles ou femelles portées par des pieds différents. Les spathes ont des grappes d'épis protégés par une bractée ligneuse close et fusiforme. Elles sont de couleur vert-jaunâtre et sont formées à partir de bourgeons développés à l'aisselle des palmes. Moulay, 2003.

6.3.2. Fleurs :

Le dattier est une plante dioïque, c'est-à-dire qu'il existe des dattiers mâles (Dokkar) et des dattiers femelles (Nakhla). Seuls les dattiers femelles donnent des fruits. Par conséquent il faut attendre la floraison pour reconnaître les pieds mâles des femelles.

Les fleurs sont unisexuées à pédoncule très court. Elles sont de couleur ivoire, jaune-verdâtre selon le sexe et le cultivar ou la variété.

- La fleur femelle est globulaire, d'un diamètre de 3 à 4 mm; elle est constituée d'un calice court, de trois sépales soudés et d'une corolle, formée de trois pétales ovales et de six étamines avortées ou staminoïdes.

- La fleur mâle a une forme légèrement allongée, Les fleurs mâles sont généralement, de couleur blanche crème, à odeur caractéristique de pâte de pain.

Les phénomènes de changement de sexe chez le palmier ou de l'existence d'inflorescences des deux sexes à la fois, sont très rares, Moulay, 2003.

6.3.3. Fruit : « la datte ; Tmar »

Le fruit du palmier dattier est une baie appelée « Datte, Tmar en Arabe », contenant une seule graine « noyau ». Après fécondation, le fruit, d'abord de couleur verte prend différentes couleurs selon le stade de maturité, El Shahib et Marshall 2002 :

- Stade LOULOU
- Stade KHALAL
- Stade BSER
- Stade ROUTAB
- Stade TMAR

Sachant que le stade BSER et le stade TMAR sont les plus étudiés dans les différents travaux de caractérisation car le fruit a atteint sa taille et sa forme finale, IPGRI, 2005. Selon Belguedj 2002 ; la reconnaissance et la classification des nombreuses variétés sont très délicates, elle est basée sur la description d'un ensemble de caractères, à savoir : la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids, les dimensions, ainsi que la composition chimique du fruit. Fig. 6 Yakoub-Bougdal 1984.

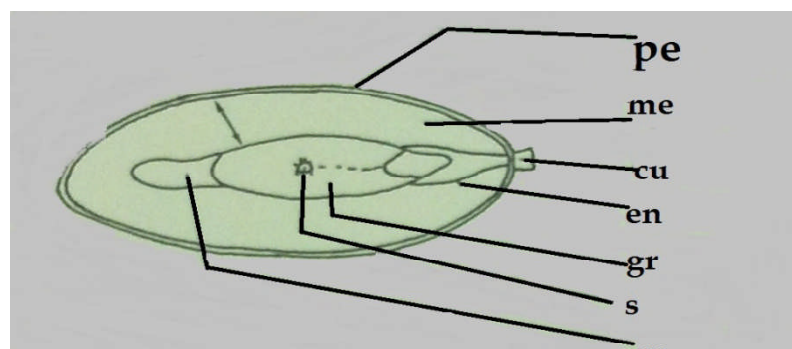


Figure 06: Coupe longitudinale du fruit : la datte gr x I. Yakoub-Bougdal, 1984.

- pe : péricarpe
- me : mésocarpe
- en : endocarpe
- gr : graine
- ca : cavité ou loge de la graine
- s : saillie
- cu : cupule (=périanthe) adhère souvent au fruit.

6.3.4. Graine :

Elle est contenue dans la datte, composée d'un albumen blanc dur et corné, protégée par une enveloppe cellulosique, Espiard 2002. Selon, Djerbi 1994, elle constitue un sous produit intéressant ; c'est pour cette raison qu'elle a fait l'objet de plusieurs travaux, par la mesure de ses dimensions, par la description de sa couleur mais aussi par la surface qu'elle présente et qui peut être : lisse, ridée, bosselée, striée, Ipgri, 2005.

La taille et la morphologie externe des graines de palmier dattier varient énormément selon la variété. D'une manière générale, ces graines ont une forme ellipsoïde avec un sillon longitudinal, Meerow, 2004. La membrane extérieure du noyau peut être striée ou lisse, Ben Salah et Hellali, 2003, sur la face dorsale se trouve le pore germinatif, Iossi et *al.*, 2006. A la périphérie de la graine, l'embryon de petite taille, occupe une position latérale, son extrémité aigüe est orientée vers l'extérieur, Iossi et *al.*, 2006. Des coupes sont réalisées sur la variété Deglet-Nour Fig. 7 Yakoub-Bougdal, 1984.

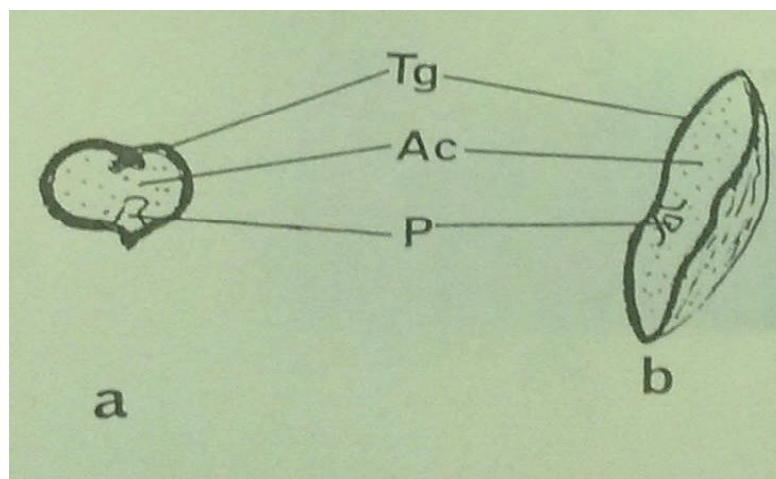


Figure 07: Coupe transversale (a) et longitudinale (b) de la graine sèche (dessin Gr x I).Yakoub –Bougdal, 1984.

Tg: tégument

Ac: Albumen

P: Plantule

6.4. Cycle végétatif annuel :

Belguedj, 2002, montre différents stades selon la période de l'année. (Tab. 1)

Tableau 01 : Le cycle végétatif annuel du palmier dattier, Belguedj, 2002.

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

7. Multiplication :

La multiplication par noyau (semis) ne reproduit pas fidèlement la « variété » dont il est issu. On obtient en moyenne par semis de noyaux 50% de sujets femelles, l'hétérozygotie des plants originaux provoque une très forte hétérogénéité de la descendance. Cette méthode de multiplication permettait aux phoeniculteurs d'opérer des sélections parmi les meilleurs plants issus de noyaux et de multiplier ensuite par voie végétative. Ainsi les variétés actuelles ne sont que le produit de cette sélection et ne sont en fait que des phénotypes, Ben Abdallah 1990 ; Belguedj 2002. Les différentes variétés de Palmier dattier sont résumées dans le Tab. 2, Benkhalifa et al., 2010.

Tableau 02: Inventaire variétal (cultivar) dans les trois régions phoenicicoles d'Algérie Benkhalifa et *al.*, 2010.

| Region | Nombre de cultivars | Cultivars les plus courants |
|------------|---------------------|---|
| Ouest | | |
| Atlas | 70 | Ghares, 'Asyan, Feggus, |
| Saoura | 80 | Feggus, Hartan, Cherka, Hmira, Deglet |
| Gourara | 320 | Talmine |
| Touat | 190 | Hmira, Tinnaser, Taqerbuch |
| Tidikelt | 60 | Tgazza, Aghamu, Taqerbuch Tgazza, Taqerbuch, Cheddakh, Aggaz |
| Centre | | |
| El-Meniaa | 70 | Timjuhart, Ghars, Timedwel |
| M'Zab | 140 | Azerza, Ghars, Deglet Nour, Taddela |
| est | | |
| Ouargla | 70 | Ghars, Deglet Nour, Degla Beida |
| Oued Righi | 130 | Deglet Nour, Ghars, Degla Beida |
| Souf | 70 | Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, MichDegla |
| Zibans | 140 | Deglet Nour, Ghars, Degla Beida, MichDegla |
| Autre | 220 | Buzrur, 'Alig, Buhles, MichDegla |
| tassili | 180 | Tanghimen, Tabanist, Khadaji |

En résumé, la multiplication du palmier se fait donc par :

- Rejet : qui reproduit intégralement les caractéristiques du pied mère (sexe, aptitude, qualité des fruits,) c'est la seule méthode utilisée par les phoeniculteurs pour la reproduction du palmier dattier
- Gourmand
- Culture cellulaire des tissus : face aux maladies et pour pallier aux problèmes de disparition de variété ne présentant peu ou plus de rejets les techniques de multiplication *in vitro* peuvent être un relais efficace des techniques traditionnelles, Ben Abdallah 1990.

Il existe trois techniques pour propager du palmier dattier, Zaid, 2001 :

➤ Germination des graines :

Egalement appelé la propagation sexuelle, bien utile pour des fins de reproduction, n'est pas une bonne méthode de multiplication végétative du palmier dattier.

➤ Multiplication par plantation des rejets :

Des ramifications qui se développent à partir des bourgeons axillaires à la base du tronc de la plante mère, et par conséquent les fruits seront de la même qualité que la plante mère et assure l'uniformité des produits.

➤ Techniques de culture de tissus :

La multiplication *in-vitro*, permet la propagation à grande échelle et la sélection des cultivars résistants aux maladies.

Deux méthodes différentes de culture *in-vitro* ont été déployées pour le palmier dattier :

- Voie de l'organogénèse.
- Voie de l'embryogénèse somatique.

8. Cycle de développement :

Selon Belguedj, 2002, le palmier dattier en Algérie comporte généralement quatre phases :

- Phase jeune : croissance et développement (5 – 7ans).
- Phase juvénile : période d'entrée en production .
- Phase adulte : début de décroissance de production (60ans).

Phase de sénescence : chute de la production (80 ans et plus)

Selon Riedacker, 1990, Riedacker, 1993, le genre *Phoenix* est unique dans sa morphologie mais aussi dans son développement ; il est possible de distinguer, aussi bien au niveau pratique que théorique, cinq phases de croissance de cette plante.

Elles sont décrites sur des critères morphologiques alors qu'elles correspondent en réalité à des périodes physiologiques :

➤ Stade 01 : Graine

Elle possède un albumen dur et corné dont l'embryon, dorsal, est toujours très petit par rapport à l'albumen.

➤ Stade 02 : phase germinative.

A ce stade, la plantule, en germination, vit sur les réserves que constitue l'albumen. La première feuille est de forme linéaire et lancéolée. Cette forme est une des caractéristiques du genre *Phoenix*. Fig.9 Yakoub-Bougdal, 1984.

➤ Stade 03 : construction de la plante.

Cette phase post germinative est la plus importante dans l'ontogénie des palmiers car elle aboutit à la construction de l'axe primaire. La plante devient autotrophe et son système vasculaire doit se construire. Durant cette phase appelée aussi « phase d'établissement », on observe une série de feuilles à limbe parapenné puis penné et qui ont une insertion spiralée caractéristique du genre *Phoenix*, Riedacker, 1993.

➤ Stade 04 : phase adulte végétative :

Le dattier va construire son tronc ou stipe et acquérir son « port de palmier » par extension continue de l'axe végétatif. Cette phase où il produit essentiellement des feuilles et accumule des réserves peut durer de 3 à 8 ans. Le tronc couvert par la base de feuilles anciennes mortes et/ou coupées, peut atteindre 20 à 30 m de haut et environ 1 m de diamètre

➤ Stade 05 : phase adulte reproductive.

Entre la 5^{ème} et la 8^{ème} année, le dattier commence à produire des inflorescences. Le dattier étant dioïque, ce n'est qu'à ce stade que l'on peut reconnaître son sexe (les quatre stades précédents apparaissent identiques chez les pieds mâles et femelles).

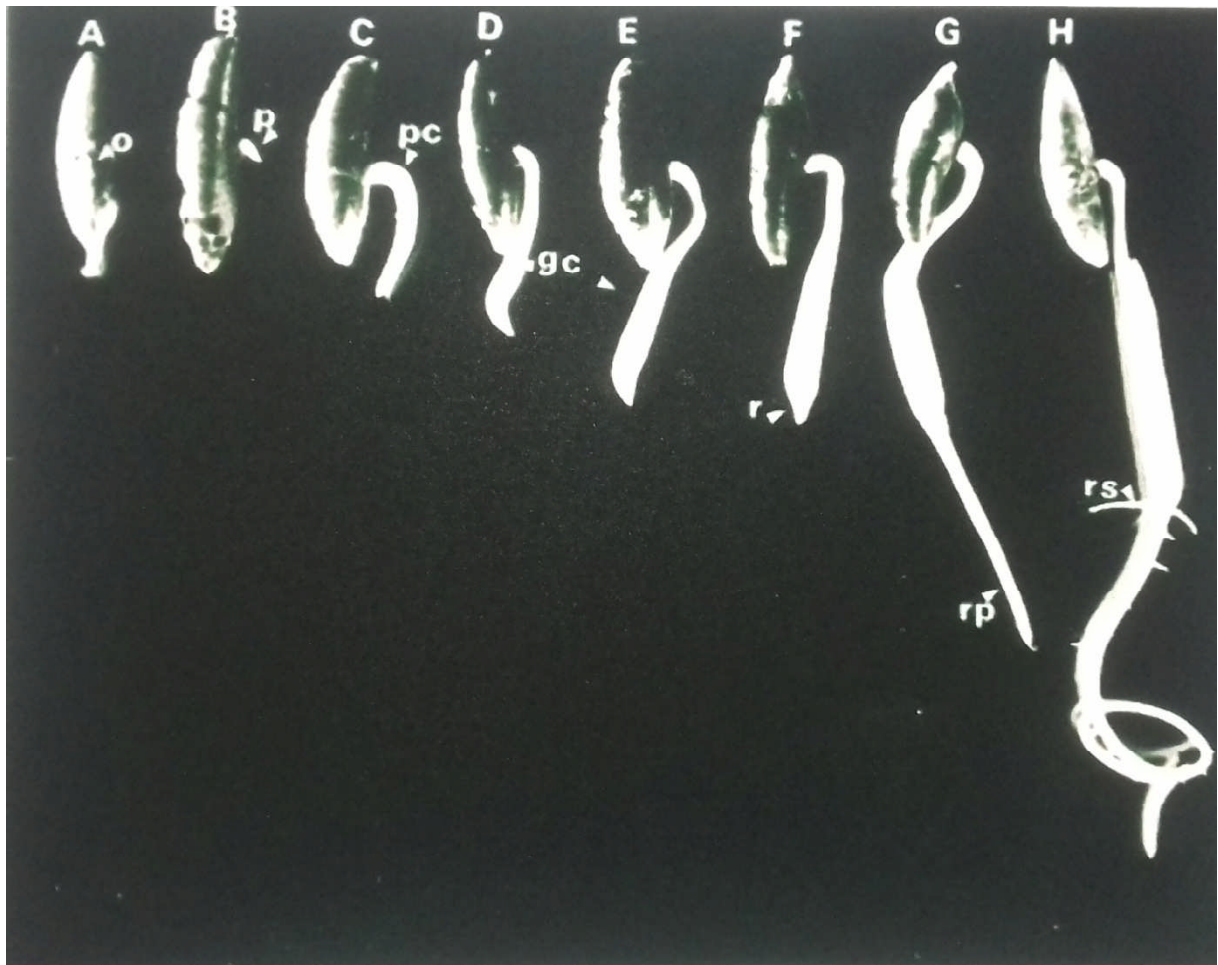


Figure 08: Germination de la graine et développement de la jeune plante du Palmier dattier. Yakoub-Bougdal, 1984.

A : soulèvement de l'opercule (o)

B : 10^e jour de la germination, sortie de la future plante (p)

C : 15^e jour de la germination, allongement du pétiole cotylédonaire (pc)

D et E : allongement du pétiole cotylédonaire (pc) et épaissement de la graine cotylédonaire (gr)

F : début de l'apparition de la radicule (r)

La culture in vitro :

1. Définition :

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

La technique *in vitro* est un mode de multiplication végétative artificielle des plantes, qui doit respecter la conformité variétale des caractères végétatifs et productifs.

Il s'agit d'un ensemble de méthodes faisant intervenir d'une part l'asepsie (stérilisation du matériel, désinfection des explants), et d'autre part des conditions de culture parfaitement contrôlées (milieux de culture définis pour chaque type de plante, température, lumière, humidité,...).

Les cultures *in vitro* de plantes sont des cultures d'explants de plantes, sur un milieu nutritif artificiel, en conditions stériles, dans un environnement contrôlé et dans un espace réduit. C'est donc, une méthode pour maintenir et cultiver indéfiniment des plantes ou des cellules sur des milieux nutritifs artificiels Zryd , 1988.

Ces méthodes s'appliquent aux organes ou aux fragments d'organes ; les explants : Les explants peuvent être des parties d'organes ou des organes entiers, (tige, feuille, racine, fleurs, etc.), des tissus, des pièces florales, des graines ou des embryons, des bourgeons ou des apex ou des méristèmes, des cellules somatiques ou sexuelles, des cellules végétales débarrassées de la paroi ou protoplastes.

L'explant est choisi en fonction de la technique utilisée, l'objectif visé, mais aussi de l'espèce choisie. Togo, 2009.

2. Historique:

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

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

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

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

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

En 1955, la découverte de la kinétine, substance douée d'une puissante activité caulogène, puis d'autres cytokinines ont permis de provoquer presque à volonté la néoformation de bourgeons adventifs ;

Cette multiplication végétative in vitro fut enfin facilitée par la mise au point à partir de 1962 de solutions minérales particulièrement appropriées, Margara, 1989.

En 1966, Guha et Maheswari en Inde obtenaient des plantes haploïdes de *Datura innoxia* à partir de culture d'anthères ;

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

Plusieurs autres recherches sont menées par d'autres chercheurs: Euwen 1978, Bouguedoura 1979, sur différentes parties de la plante et ont donné des résultats de plus en plus prometteurs.

On trouve aussi les travaux de Yakoub-Bougdal 1984 ; 1987 et Yakoub et al. 1998 ; 2000 et Yakoub- Bougdal 2005

3. Différentes techniques de la CIV :

Plusieurs travaux ont été réalisés selon le tableau 3.

➤ Culture de méristèmes :

Chez une plante virosée la répartition du virus semble très variable selon l'organe, le méristème en particulier est une structure très protégée et est généralement indemne de virus, Ochett *et al.*, 2005, et selon Téoulé, 1993

Le méristème est un petit organe composé de cellules mèristématiques à division rapide ; il constitue le matériel idéal de départ étant donné que le méristème se développe d'une manière génétiquement stable et réduit le niveau d'infection virale Espinosa *et al.*, 1992.

➤ Embryogenèse somatique :

Un apport important de la technique de culture *in vitro* à la biologie a montré que des cellules somatiques pouvaient produire des structures comparables à des embryons méritant l'appellation d'embryons somatiques, Margara ,1989 ; Gray *et al.* , 1995 ; Berrichi et al, 2013.

Tableau 03 : Principaux travaux de culture *in-vitro*(embryogenèse somatique) sur Palmier dattier. Berrichi et *al.*, 2013.

| Auteurs | Explants | Résultats |
|-------------------------------------|--|--|
| Reuveni et <i>al.</i> , 1972 | Embryons zygotiques entiers. | Obtentions de cals embryogènes |
| Bouguedoura, 1979 | Apex, bourgeons axillaires, stipe, et rachis | Formations de plantules |
| Reynolds et Murashige, 1979 | Embryons excisés de noyaux immatures | Proembryons |
| Tisserat, 1979 | Embryons excisés de graines apex, bourgeons axillaires, fragments de rachis ainsi que des inflorescences | Formation de plantules |
| Master, 1986 | Embryons zygotiques immatures, fragments de cœurs de rejets | Formation de plantules |
| Sharma et <i>al.</i> , 1984 et 1986 | Apex, bourgeons axillaires, explants foliaires de vitro-plants | Formation de plantule |
| Yakoub-Bougdal 1984 et 1987 | Embryons, apex, bourgeons axillaires | Formation d'inflorescences et étude des phytochromes, dosage de l'ADN et marquage de l'ADN |
| DaikhDemarly, 1987 | Explants foliaires de vitro-plants | Formation de plantules |
| Daguin et Letouze, 1987 | Tissus de cœur de rejets | Formation de plantule |
| Saka et Abed, 1989 | Tissus de cœur de rejets | Formation de plantule |
| Lachqersillou, 1989 | Tissus de cœur de rejets, Embryons zygotiques | Formation de plantule |
| Loutfi, 1989 | Jeunes inflorescences mâles et femelles | Formation de plantule |
| Scoarnec, 1991 | Tissus de cœur de rejets | Formation de plantule |
| Chabane, 1995 | Apex, bourgeons axillaires, stipe, et rachis, feuilles de cœur de rejets | Formation de plantule à partir d'apex, et de feuilles de cœur de rejets |
| El Hadrami et Baaziz, 1995 | Tissus de cœur de rejets | Formation de plantule |

| | | |
|--------------------------|--|--|
| Fergani, 1998 | Apex, bourgeons axillaires, stipe, jeunes feuilles | Formation de plantule |
| Yakoub-Bougdal 2005 | Embryons, apex, méristèmes, bourgeons axillaires | Formation d'inflorescences et étude comparative entre les monocotylédones et les dicotylédones |
| Chukwuemeka et al., 2005 | Tissus de cœur de rejets | Formation de plantule |
| Yatta, 2007 | Tissus de cœur de rejets | Formation de plantule |
| Moussouni, 2008 | Etude de l'embryogenèse zygotique | Formation de plantule |

❖ Etapes de culture *in vitro*:

Quatre étapes principales sont nécessaires pour établir une espèce, un cultivar, une variété *in vitro*.

- ✓ Une première étape d'initiation de la culture est nécessaire : conditions d'asepsie.

C'est la phase la plus sensible qui consiste à désinfecter les explants ou les graines, les stériliser, avant de les placer sur un milieu de culture approprié.

- ✓ Viennent ensuite les étapes de multiplication, d'enracinement et enfin de sevrage ou acclimatation.

Le sevrage est le passage des conditions de laboratoire aux conditions de la serre. Cette phase s'avère souvent critique, car les plantes en tubes ont perpétuellement leurs stomates ouverts, même les plantes succulentes peuvent sécher si le changement d'environnement se fait trop brusquement. Togo, 2009.

4. Conditions de culture :

- Lumière et photopériode :

La lumière est un facteur déterminant pour la culture *in vitro* des plantes, elle a une grande influence de part la durée d'exposition (photopériode), selon Hussey et al., 1981.

Généralement le début de croissance nécessite une faible intensité lumineuse (500 à 1000 lux) avec 12 à 16 heures de photopériode, lorsqu'il s'agit de préparer la plantule au repotage en serre, il apparaît souvent préférable d'augmenter l'intensité de l'éclairage 10000 lux, Margara, 1989.

- **Température :**

La température de beaucoup de chambres de culture est constante, de l'ordre de 22° à 25°C, Margara, 1989, et dans le cas du Palmier dattier la température utilisée est de l'ordre de 28°C.

- **Milieux de culture :**

Ils sont constitués de sels minéraux, Macro – éléments et Micro éléments.

Le potassium occupe la première position, il existe dans le milieu sous forme de nitrate ou chlorure avec une concentration de 20 à 30 mM.

Deuxièmement le phosphore est absorbé sous la forme orthophosphorique ($H_2 PO_4$ ou HPO_4), les besoins de la croissance dans les cultures des tissus varient de 1-30 mM, il augmente la densité des racines.

Pour le calcium, les besoins varient de 1-3 mM, le rôle du calcium, est le maintien de la structure cellulaire.

Le magnésium a un rôle de construction de la molécule de chlorophylle et finalement les composés azotés représentent la principale source d'alimentation azotée, Yves, 1984.

- **Saccharose :**

Pour la culture *in vitro* le saccharose constitue une source d'énergie car la plante n'est pas encore arrivée à satisfaire ses besoins énergétiques, on peut dans un cas particulier utiliser d'autres sources, tels, le galactose et le lactose, Téoulé, 1993.

- **Vitamines :**

En culture *in vitro* certaines vitamines sont favorables à la croissance des tissus, parmi les principales, citons : la thiamine, l'acide nicotinique, la pyridoxine, leurs concentrations sont fréquemment de l'ordre de 1mg/l, Téoulé, 1993.

- **Régulateurs de croissance :**

Les régulateurs naturels de croissance des végétaux, appelés souvent hormones de croissance, se repartissent actuellement en cinq groupes : auxines, cytokinines, gibbérellines, acide abscissique, éthylène selon Margara, 1989.

Les auxines (Acide indole acétique, Acide indole butyrique) et les cytokinines (la kinétine et la benzylaminopurine) sont des régulateurs de croissance indispensables au bon démarrage et à l'entretien de cultures de tissus végétaux *in vitro*.

D'ailleurs, les prédictions de Haberlandt sur la potentialité des cellules végétales n'ont pu recevoir une confirmation qu'à partir de 1939.

Les cytokinines sont impliquées dans l'augmentation du nombre de cellules ; ce qui se fait en fonction de l'équilibre auxines /cytokinines qui détermine l'organogénèse.

5. Techniques de réalisation de la culture *in vitro* :

Les techniques de culture *in vitro*, outre l'aspect technologique, doivent permettre de pallier un certain nombre de difficultés :

- maintenir l'explant en vie et en activité
- permettre à cet explant d'entrer normalement en croissance dans le cas d'une structure organisée (apex, méristème, bourgeon) ;
- induire chez des cellules différenciées (fragment de feuille, de racine, de tige, de pétiole, etc.) un processus de dédifférenciation.

✚ Milieu de culture : Murashige et Skoog

La composition du milieu de culture est l'élément déterminant de la réussite de la multiplication végétative *in vitro*, (Tab.4).

Les différents éléments composant un milieu de culture idéal sont les suivants :

Eau, sels minéraux (macroéléments et micro éléments), fer chélaté, vitamines (généralement du groupe B), phytohormones (ou régulateurs de croissance), la source carbonée (généralement le saccharose), et l'agent gélifiant pour les milieux solides; le milieu le plus utilisé dans le monde actuellement est celui de Murashige et Skoog (MS), 1962.

Le milieu synthétique sera renouvelé toutes les 4 à 5 semaines pour une croissance optimale des vitroplants. Les conditions stériles ou d'asepsie sont obtenues par un ensemble d'opérations qui permettent de protéger l'explant à multiplier et son milieu contre toute contamination microbienne, Togo, 2009.

Selon Evans et *al*, 1981 dans 70% des cas, un milieu de culture de base de type Murashige et Skoog (MS) a été utilisé. Il a été sélectionné pour tous les types de cultures *in-vitro*. Mais c'est essentiellement pour le déclenchement de l'organogénèse, en particulier pour la néoformation de bourgeons qu'il s'est révélé nettement supérieur à d'autres milieux, Margara, 1989, c'est le cas du *Cunilagalioides*, Fracaro et Rigary, 2001.

Le milieu de MS est caractérisé principalement par une très forte teneur en sels minéraux, en particulier en potassium et par une concentration également élevée en azote (60 méq/l environ

sous forme de nitrate et d'ammonium) dont 1/3 est apporté sous forme réduite (ions NH_4^+); le rapport nitrate / ammonium, donc ce milieu est très favorable à l'induction de l'embryogenèse somatique, en particulier chez *Feijoa sellowiana*, Del Vesco et Guerra, 2001.

Dans le cadre de notre expérimentation nous avons essayé d'appliquer la même technique utilisée par Atta et al., 2008, qui se résume sur l'obtention des pousses régénérées qui proviennent directement ou indirectement à partir des cellules de péricycle adjacentes aux pôles du xylème. En outre ; les pousses proviennent de la formation de méristème à partir de racine latérale, Clark et al., 1996

Tableau 04 : Composition du milieu Murashige et Skoog (1962)

| Eléments | Composition chimique | Concentration en mg/l |
|---------------|---|---|
| Macroéléments | $\text{NH}_4 \text{NO}_3$ K NO_3 $\text{Mg SO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca Cl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{KH}_2 \text{PO}_4$ | 1650 1900 440 370 170 |
| Microéléments | $\text{H}_3 \text{BO}_3$ $\text{Mn SO}_4, 4\text{H}_2\text{O}$ $\text{Zn SO}_4, 4\text{H}_2\text{O}$ KI $\text{Na}_2 \text{Mo O}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{Cu SO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ $\text{Co Cl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$ | 6.20 22.30 8.60 0.83 0.25 0.025 0.025 |
| Fer (Fe-EDTA) | $\text{Fe SO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{Na}_2 \text{EDTA}$ | 27.85 37.25 |

| | | |
|-----------|-------------------|--------|
| Vitamines | Glycine | 2.00 |
| | Acide nicotinique | 0.50 |
| | Pyridoxine HCL | 0.50 |
| | Thiamine | 0.10 |
| Divers | Sucre | 45.000 |
| | Agar | 7.000 |
| | Myo-inositol | 100 |

6. Les avantages de la culture *in vitro*:

La possibilité de conservation de ressources végétales, faire une banque de génotypes et réaliser des plantations en dehors de la période de croissance LE et *al*,2002.

L'amélioration des conditions sanitaires par les techniques de culture *in vitro* sont souvent associées à l'éradication des viroses Sibi, 1981.

- La propagation végétative des espèces en voie de disparition qui ne présentent pas ces capacités en conditions classiques Sibi, 1981.
- La multiplication rapide, est due à l'augmentation de diffusion cellulaire par ces techniques, Smith et al. 1985; Collet et LE, 1988.
- La facilité de leur transport d'une région à l'autre ou d'un pays à l'autre.

1. Objectif de notre travail expérimental

L'objectif essentiel visé par ce modeste travail est de suivre le développement des embryons et des extrémités cotylédonaire d'une monocotylédone le Palmier dattier var. Deglet-Nour, pour le comparer à une dicotylédone et cela en suivant un protocole en deux parties en utilisant deux milieux de culture différents le milieu **MS₁₀** et milieu **MS/2**.

2. Matériel végétal

Nous utilisons dans notre expérimentation, des graines germées en conditions aseptiques du Palmier dattier variété Deglet-Nour qui sont issues du même régime pour éviter une forte hétérogénéité des échantillons.

Les graines sont d'abord nettoyées en commençant par enlever la peau du fruit (datte) ensuite Lavage à l'eau du robinet pour enlever tout les restes de la peau, et enfin Laisser sécher dans des boites fermées à la température ambiante du laboratoire.



Figure 09 : Graines var. Deglet –Nour séchées.

3. Matériel du laboratoire

Le matériel utilisé lors de notre expérimentation est le suivant : Des tubes à essai pour l'ensemencement des graines, des scalpels pour couper les extrémités cotylédonaire, des pipettes graduées, des béchers, des boites de pétri, des erlens-meyer, des balances, des chambres de cultures pour les mises en culture, , une étuve pour les stérilisations, des agitateurs, un mini autoclave, un réfrigérateur, du papier kraft, du papier filtre, du papier aluminium, et du coton hydrophile. Avant l'ensemencement, tout le matériel doit être stérilisé pendant une heure à 127⁰C.



Figure 10 : préparation du matériel pour la stérilisation.

4. protocole expérimental

L'application de la méthode de culture in-vitro sur le Palmier dattier, variété Deglet-Nour a pour objectifs :

- L'étude morphologique de la germination ;
- L'influence des milieux MS et MS/2 sur la croissance des embryons et des extrémités racinaires.

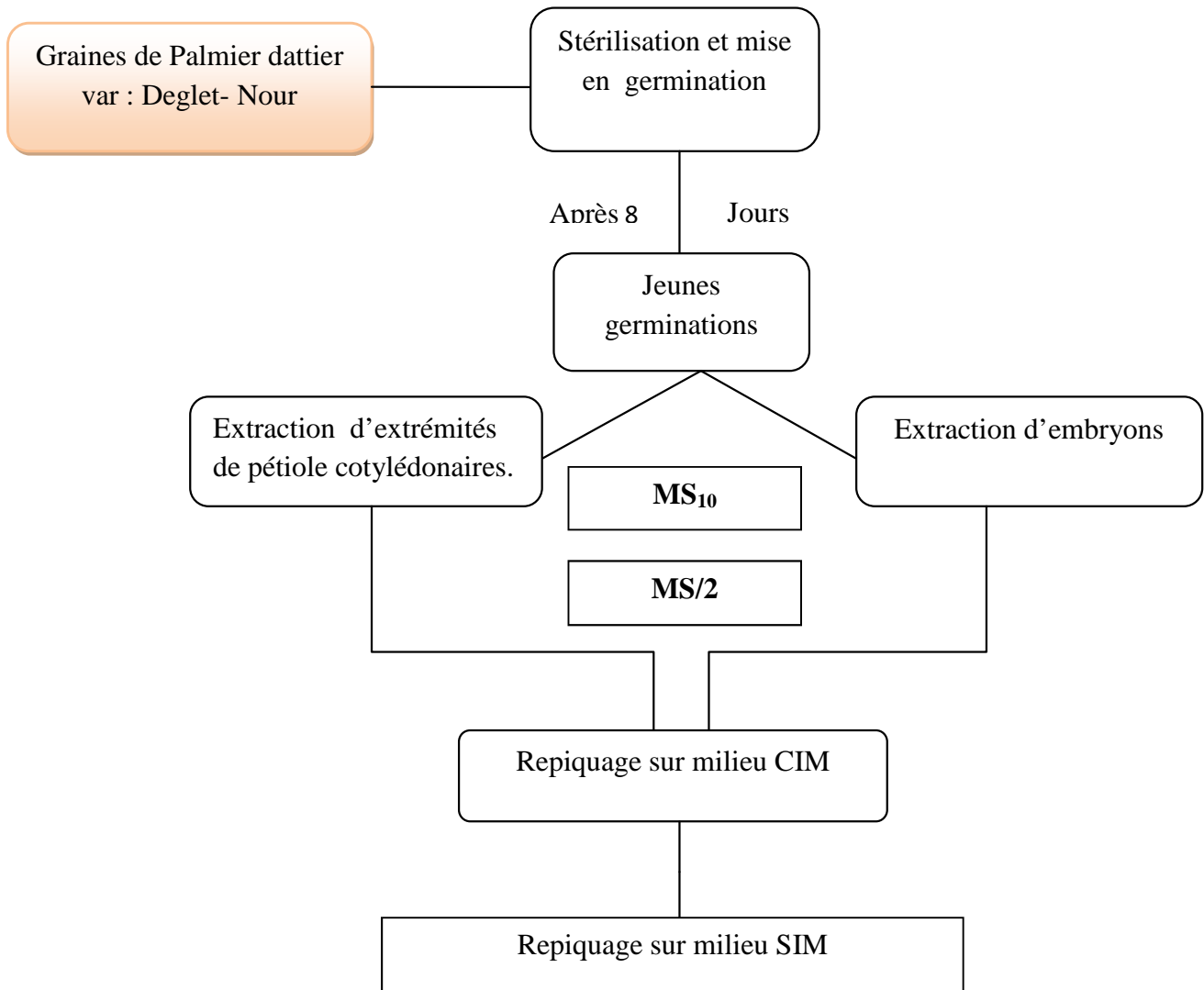


Figure 11 : Schéma résumant les différentes étapes du protocole expérimental.

Vus du manque de temps nous n'avons pas pu continuer le travail alors nous nous sommes arrêtés juste après les repiquages des embryons et des extrémités cotylédonaires sur le MS/2.

5. Technique expérimentale

La partie de notre expérimentation se résume en quelques étapes commençant par les mises en germinations puis les extractions et en fin les mises en culture sur les deux milieux de culture mais avant tout cela il faut passer par les conditions d'asepsie

5.1. Conditions d'asepsie totale

Pour réussir et avoir de meilleurs résultats, de germinations et de mises en culture il faut travailler dans des conditions stériles totales.

5.1.1. Préparation des tubes à essai

Les tubes à essai sont bien nettoyés pour éviter toutes contaminations. Leur stérilisation se fait à l'autoclave pendant 45 min.

5.1.2. Stérilisation de la hotte

Avant l'ensemencement la stérilisation de la hotte est une étape très importante. La veille de l'ensemencement on nettoie la hotte. La désinfection de l'air de la hotte se fait en allumant la lampe à UV (ultra violet).

5.1.3. Stérilisation du matériel végétal

La méthode utilisée pour la désinfection du matériel végétal se fait selon les étapes suivantes :

- Lavage des graines dans l'eau distillée stérile ;
- Passer les graines très rapidement dans l'alcool à 70⁰ C ; pour éviter les contaminations
- Passer dans le Mangozèbe (fongicide) pendant 20 min pour éviter la contamination par des champignons.
- Lavage à l'eau distillée stérilisée ;
- Lavage à l'hypochlorite de sodium Na pendant 20 min ;
- Effectuer trois lavages successifs à l'eau distillée stérile.

5.2. Préparation du milieu de culture

Pour réaliser un milieu, nous mélangeons dans un erlen-meyer l'eau distillée avec différents constituants (macro et micro éléments), nous ajustons le pH du milieu à 5.7. Deux

solutions ont été utilisées dans notre expérimentation. Il s'agit de la solution de Murashige et Skoog(MS) milieu de base juste pour réussir à avoir un développement et une autre réalisée par Yakoub-Bougdal (MS/2) pour pouvoir créer un développement caulogène vus que le 2.4-D favorise le développement caulogène.

Nous avons démarré avec le milieu de culture MS₁₀ (milieu de base) ensuite le milieu MS/2 on ajoute une balance hormonale de 0.5 mg/l de 2.4.D et 0.05 mg/l de Kinétine. Selon l'usage, les milieux de culture sont répartis dans des boites de pétri puis elles sont hermétiquement scellés avec du papier film. Tableau 5.

Tableau 5: Composition des macroéléments, Microéléments et Vitamines de Murashige et Skoog (MS)

| Macroéléments | Dose utilisée (mg/l) | Microéléments | Dose utilisées (mg/l) | Vitamines | Dose utilisée (mg/) |
|---------------------------------------|-------------------------|---|--------------------------|----------------------|------------------------|
| NH ₄ NO ₃ | 1650 | H ₃ BO ₄ | 6.2 | Thiamine | 0.1 |
| KNO ₃ | 1900 | MnSO ₄ ,4H ₂ O | 16.9 | Pyridoxine | 0.5 |
| CaCl ₂ , 2H ₂ O | 332.02 | ZnSO ₄ , 7H ₂ O | 8.6 | Acide nicotinique | 0.5 |
| MgSO ₄ , 7H ₂ O | 180.54 | KI | 0.83 | Glycine | 2 |
| KH ₂ PO ₄ | 170 | Na ₂ MnO ₄ , 5H ₂ O | 0.25 | Inositol | 100 |
| FeSO ₄ ,7H ₂ O | 27.85 | CaCl ₂ , 6H ₂ O | 0.025 | | |
| Na ₂ EDTA | 40.5 | CuSO ₄ ,5H ₂ O | 0.025 | | |

5.3.Ensemencement des graines :

Sous une hotte horizontale à flux laminaire, les graines sont stérilisées et cela par trois méthodes différente : Avec l'hypochlorite de Calcium, avec l'hypochlorite de Sodium et enfin avec du Mancozèbe. Le meilleur résultat de germination est obtenu avec l'utilisation du Mancozèbe qui est un fongicide qui grâce à son utilisation évite les contaminations par des champignons et par conséquent au aura des graines germées saines .Ces cultures sont maintenues à l'obscurité pour avoir la sortie de l'opercule et cela se fait qu'à l'obscurité vus

que les graines germent sous le sol. À une température de 28⁰ C vu que le Palmier dattier vis dans les zones chaudes donc il a besoins des jours longs jusqu'à ce que l'opercule se soulève pour laisser le passage à l'extrémité cotylédonaire



Figure 12 : Hotte à flux laminaire horizontale.

1 : Gants en latex, 2 : bavettes, 3 : graines de Palmier dattier var. Deglet-Nour, 4 : alcool 70⁰,
5 : pissette remplîtes d'eau javel, 6 : eau distillée stérile ,7 : Moncozèbe, 8 : béchers stériles,
9 : hypochlorite de sodium Na, 10 : portoir de 24 tubes à essai contenant l'eau distillée stérile,
11 : bécher contenant de l'alcool 70⁰, 12 : pinces stériles couvertes du papier kraft, 13 : bec benzène,
14 : paillasse de la hotte.



Figure 13 : Préparation des graines pour la germination en conditions stériles.

6. Extraction du matériel végétal

Après avoir eu des germinations des graines du Palmier dattier var. Deglet-Nour, nous procédons aux extractions nous commençons par les extractions des embryons parce que c'est l'embryon qui se développe le premier par rapport aux extrémités cotylédonaire

6.1.Embryons

Après environ 8 à 9 jours les germinations qui atteignent une longueur de 3 mm, leur extraction se fait par la technique mise au point par **Yakoub-Bougdal (1984)**. (Planche 1)

Elle consiste à maintenir la graine à l'aide de deux pinces solides, stériles, dont l'une servira d'étau et avec l'autre, on sort l'extrémité de la graine, celle-ci est coupée en deux, l'embryon reste logé superficiellement sur une autre moitié, on l'expulse ensuite délicatement à l'aide d'une pince stérile.

L'embryon est récupéré dans une boîte de pétri stérile. Puis on les ensemence dans des boîtes de pétris contenant un milieu de culture.



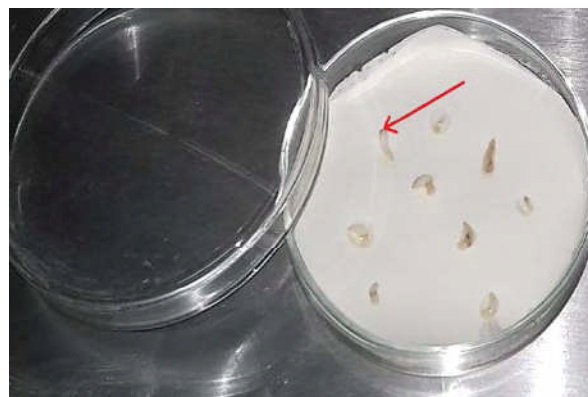
a



b



c



d

Planche 1 : Etapes d'extraction des embryons ;

a : Germination ; b, c : technique mise au point par Yakoub-Bougdal (1984), pour l'extraction, d'embryon logé superficiellement sur la graine ; d : dépôt des embryons sur une boîte de pétri stérile.

6.2. Extrémités des pétioles cotylédonaire :

Nous utilisons des germinations âgées de 11 à 13 jours parce que c'est la période où le pétiole apparait le mieux, si il dépasse cette période il ne sera plus considéré comme pétiole cotylédonaire mais dont les extrémités cotylédonaire sont coupées, Fig.14.



a

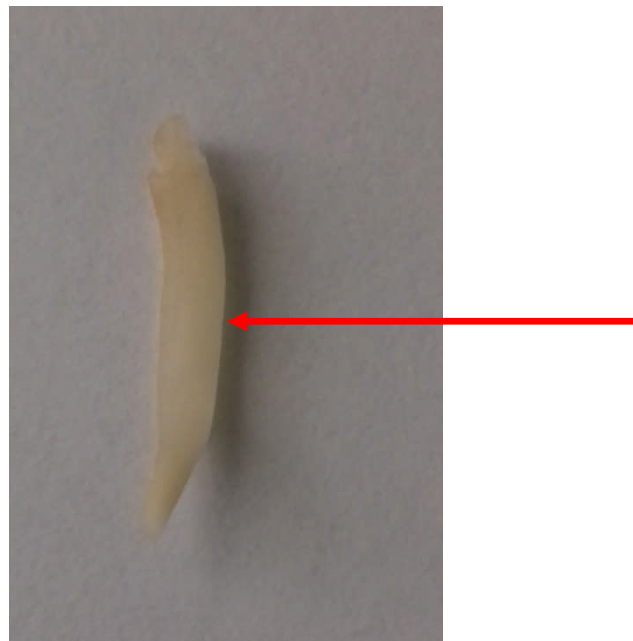


Planche 2: Etapes d'extraction des extrémités de pétiole cotylédonaire

a : Pétiole cotylédonaire, b : Section de l'extrémité cotylédonaire du Palmier dattier var Deglet-Nour

7. Repiquage des embryons et des extrémités cotylédonaire

Après avoir fini l'étape d'extraction soit des embryons et des extrémités cotylédonaire, nous passons au à la mise en culture sur le MS₁₀ qui est un milieu sans hormones, un milieu de base, c'est un milieu utiliser juste pour avoir un léger développement et garder l'organe et l'explant en vie.

7.1. Repiquage sur milieu MS₁₀ :

Nous procédons sous une hotte stérile, au repiquage des embryons et des extrémités du pétiole cotylédonaire dont la longueur est de 0.5 à 1 cm et 2 à 3 cm respectivement, dans un milieu de culture MS₁₀. (Fig. 15). Ils sont repiqués dans des boites de pétri contenant 10ml du milieu MS₁₀. Les cultures sont mises dans la chambre de culture à 28⁰ C parce que le Palmier a besoin des jours longs vus qu'il se développe dans les régions arides.



Figure 14 : Repiquage des embryons sur un milieu MS₁₀.

7.2. Repiquage sur milieu MS/2 :

Au septième jour du premier repiquage, après avoir eu un développement, nous procédons à un deuxième repiquage sur un autre milieu de culture MS/2 additionné de 2.4.D et la Kinétine, vus que ces deux hormones favorisent le développement caulogène.



a



b

Planche 3 : Développement des embryons et des extrémités cotylédonaire sur milieu MS₁₀.

a : Développement de l'embryon sur milieu MS₁₀, b : Développement des extrémité cotylédonaire.

A decorative border of palm trees surrounds the text. The border consists of a top row of 15 palm trees, a bottom row of 15 palm trees, and two vertical columns of 15 palm trees each on the left and right sides.

Chapitre II
Résultats et discussion

Résultats des germinations obtenus in-vitro

1.1. Modes d'expression de la germination

- Temps de latence : C'est la durée nécessaire pour la germination de la première graine du lot. Elle correspond à la prise d'eau et au gonflement de la graine.
- Capacité de germination : C'est le pourcentage de germination maximal obtenu dans des conditions bien précises.

Le tableau 8, montre le nombre d'essais, le pourcentage de germination ainsi que le taux de nécrose des graines du Palmier dattier var Deglet-Nour. Il faut savoir que le nombre de grainesensemencées à chaque essai est de 24.

Tableau 8: Taux de germination, contamination et nécrose chez les graines du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), var Deglet-Nour

| Lot N ^o | Germination % | Contamination % | Nécrose % | Effectifs |
|--------------------|---------------|-----------------|-----------|-----------|
| 1 | 41,66 | 16,66 | 41,66 | 24 |
| 2 | 58.33 | 29.16 | 12.50 | 24 |
| 3 | 62.50 | 25 | 12.49 | 24 |
| 4 | 87,50 | 0,00 | 12,50 | 24 |

L'analyse du tableau montre que le pourcentage le plus élevé pour la germination n'est obtenu qu'au quatrième essai avec une valeur 87.50% donc 21 graines ont germé. Nous n'avons pas de contaminations.

Pour le premier lot de 24 graines nous avons obtenu 41.66 % germées et 16.66 % contaminées, et 41.66 nécrosées.

Pour le deuxième lot, le pourcentage de nécrose a diminué, nous avons obtenu un nombre de 14 graines germées, 3 graines nécrosées et pour les contaminations on a eu 7 graines.

Le troisième lot, le pourcentage de germination a augmenté (15 graines), seules 6 graines sont contaminées et 3 graines nécrosées.

1.2. Morphologie de la germination

La germination c'est l'ensemble des processus qui vont du début de la réhydratation de la graine et qui se terminent par la sortie de la radicule. Les différentes étapes du processus de la germination sont comme suit : **La première étape** correspond au gonflement de la graine, c'est le résultat de la prise d'eau (Stade a, Planche 2). **Au 5^{ème} jour**, on remarque le soulèvement de l'opercule qui entraine la sortie d'un bourrelet conique de 1 mm de longueur, qui renferme l'embryon (Stade b, Planche 2) **Au 9^{ème} jour** le pétiole cotylédonaire s'allonge, il atteint environ 1.3 cm de long (Stade c, Planche 5). **Au 14^{ème} jour** Epaississement et allongement du pétiole cotylédonaire, et apparition de la radicule (R) (Stade d, Planche 2).

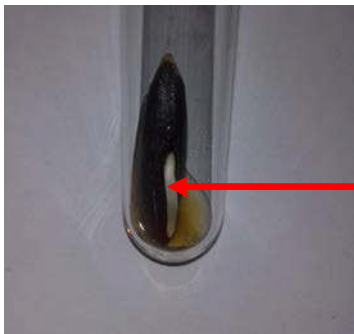


a

O



b



c

PC



d

Planche 4 : Différents stades de la germination des graines de Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), var. Deglet-Nour, (Laboratoire CIV, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2016),

a : Gonflement de la graine (5 jours). b, Soulèvement de l'opercule (O) (9 jours). c : Allongement du pétiole cotylédonaire (PC) (14 jours). d : Epaississement du pétiole cotylédonaire

2. Culture d'extrémités cotylédonaire et d'embryons

2.1. Milieu MS₁₀

Au cours de notre expérimentation, nous avons mis en culture deux types d'explants à savoir les extrémités des pétioles cotylédonaire et des embryons entier sur deux milieux de culture différents, le milieu de base MS₁₀ et MS/2 additionné d'une balance hormonale de 0.5 mg/l de 2.4.D et 0.05 mg/l de Kinétine.

Le tableau (9) des pourcentages de contamination, de nécrose et de développement obtenus sur 24 échantillons sur le milieu MS₁₀

Tableau 9 : pourcentage de contamination, de nécrose et de développement sur le milieu MS₁₀ pendant 1 mois.

| explants | Embryons entiers % | | | Extrémités cotylédonaire % | | |
|------------------------|--------------------|---------|---------------|----------------------------|---------|---------------|
| | contamination | nécrose | Développement | contamination | nécrose | Développement |
| MilieuMS ₁₀ | | | | | | |
| 1 semaine | 0 | 1 | 0 | 4 | 1 | 0 |
| 2 semaines | 1 | 5 | 8 | 4 | 11 | 2 |
| 3 semaines | 0 | 3 | 10 | 5 | 2 | 12 |
| 4 semaines | 6 | 11 | 14 | 3 | 5 | 8 |

Les données du tableau, montrent que lors de la première semaine du repiquage des embryons il n'est apparu aucune contaminations ni développement contrairement aux extrémités cotylédonaire qui présentent un pourcentage remarquable de contaminations. Le pourcentage le plus élevé de développement pour les embryons et aussi pour les extrémités cotylédonaire est remarqué lors de la quatrième semaine. Les résultats obtenus montrent que le taux de contaminations des embryons est faible par rapport aux extrémités des pétioles cotylédonaire. Ces données montrent que lorsqu'il s'agit de la culture d'embryons et d'extrémités cotylédonaire sur un milieu MS₁₀, le pourcentage du développement des embryons est plus élève par rapport à celui des extrémités cotylédonaire.

- Analyse des données de développement d'embryons sur la MS₁₀ montre les observations suivantes (Planche 5) :

On remarque dès la deuxième semaine de mis en culture des embryons sur milieu MS₁₀ un recourbement stupéfiant des embryons vers le milieu de culture. Le premier vu se réalise au

5^{ème} jour de culture. (Planche 5).Après une semaine de culture, on observe un développement important d'embryons. Durant la deuxième semaine, les embryons âgés de 18 jours présentent une croissance remarquable. Au coure de la 3^{ème} semaine, début de gonflement d'embryons. Durant la 4^{ème} semaine, on remarque un gonflement important et ouverture des embryons.

Analyse des données de développement d'extrémités cotylédonaires sur MS₁₀, montre les observations suivantes (Planche 6) : Première semaine : début de développement des extrémités cotylédonaires, et apparition d'une feuille engainante, deuxième semaine : développement de la feuille. Quatrième semaines : sur 20 explants mis en culture sur MS₁₀ présentent un recourbement. (Planche 6)

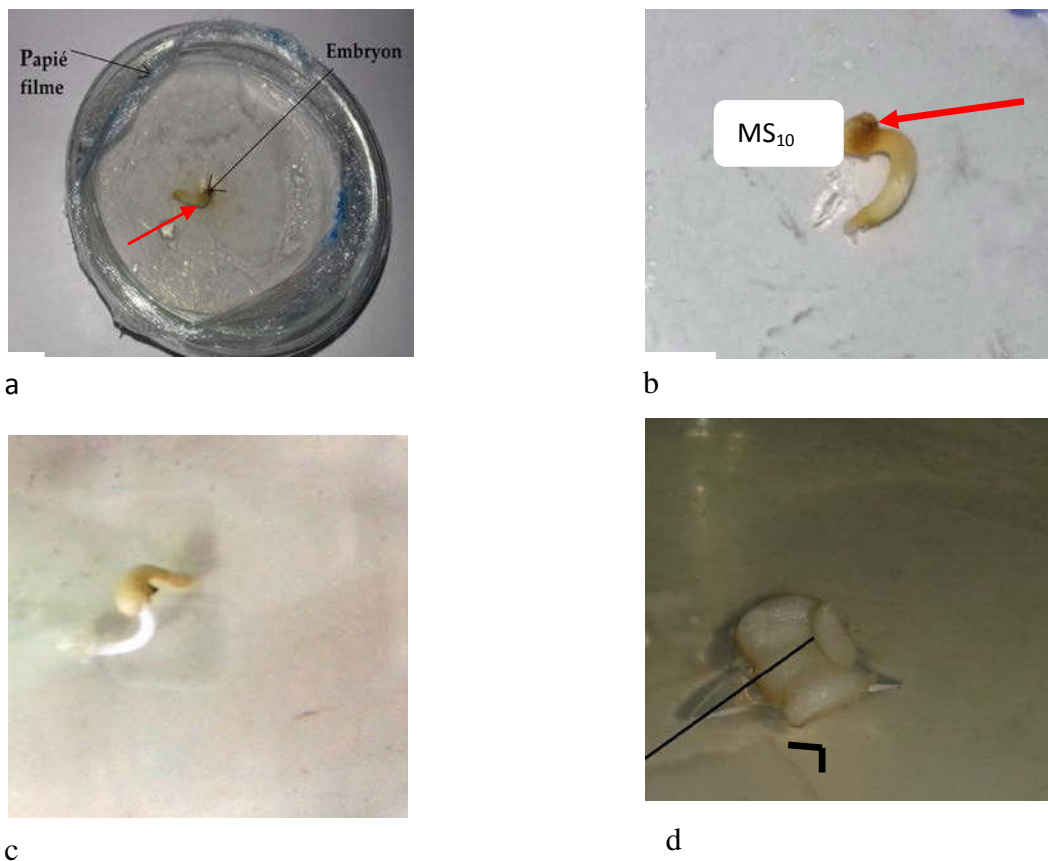


Planche 5 : Développement des embryons de Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) var Deglet-Nour, sur le milieu MS₁₀ en fonction du temps.

- a- Embryons mis en culture dans le MS₁₀
- b- Embryon âgé d'une semaine sur un milieu MS₁₀
- c- Embryon âgé de deux semaines sur milieu MS₁₀
- d- **Gonflement important et ouverture de l'embryon âgé de 3 semaines.**



a



b



c

Planche 6 : Développement des extrémités cotylédonaire de Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), var Deglet-Nour sur le milieu MS₁₀ en fonction du temps.

- a- Apparition de la feuille engainante
- b- Développement de la feuille engainante
- c- Dissection de la base pour le repiquage de la feuille engainante.

2.2.Milieu MS/2

Le milieu MS/2 est un milieu additionné d'une balance hormonale de 0.5 mg/l de 2.4.D et 0.05 mg/l de Kinétine. Le tableau 10 , résumant les résultats obtenus après 3 semaines de culture.

Tableau 10: Etapes et développement des embryons et des extrémités cotylédonaire du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), var Deglet-Nour sur le milieu MS/2 additionné d'hormones.

| explants | Embryons entiers (%) | | | Extrémités cotylédonaire (%) | | |
|-------------------|----------------------|---------|---------------|------------------------------|---------|---------------|
| | contamination | nécrose | Développement | contamination | nécrose | Développement |
| 1 semaine | 0 | 1 | 3 | 1 | 3 | 5 |
| 2 semaines | 4 | 2 | 8 | 0 | 7 | 11 |
| 3 semaines | 8 | 5 | 12 | 2 | 6 | 16 |

Les observations faites sur les embryons mis en culture sur MS/2 figurent sur la Planche 8 montrent un meilleur développement. Au cours de la première semaine nous remarquons un recourbement très important des embryons âgés de 9 jours vers le milieu de culture (planche 5, a). Durant la deuxième semaine, on observe un développement considérable, (planche 5, b). Au cours de la 3^{ème} semaine, l'embryon âgé de 21 jours (planche 5, c).

Ces données montrent que lorsqu'il s'agit de la culture des embryons et des extrémités cotylédonaire sur un milieu MS/2, le pourcentage du développement des embryons est plus faible par rapport à celui des extrémités cotylédonaire. Les observations faites sur les extrémités cotylédonaire mises en culture sur MS/2 figurent sur la Planche 7.

Après avoir mis les extrémités cotylédonaire sur MS₁₀ pendant 4 semaines nous avons repiqué sur MS/2, nous avons eu les résultats suivants :

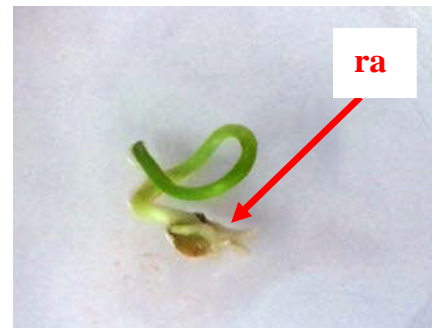
Les extrémités cotylédonaire âgées de 11 jours repiqués sur le MS/2 (Planche 7), l'allongement est plus important. Durant la deuxième semaine, le développement de la feuille engainante âgée de 15 jours. (Planche 7). Vers la troisième semaine, la majorité des extrémités cotylédonaire se développent considérablement et présentent des feuilles engainantes (Planche 7).



a



b

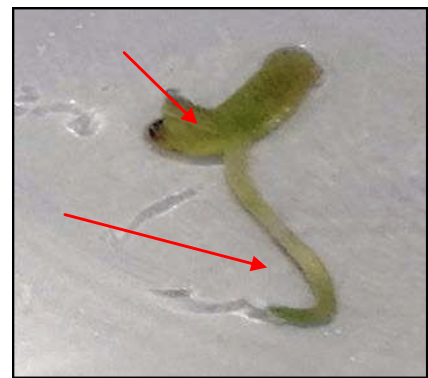


c

Planche 7: Développement des embryons de Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*), var Deglet-Nour sur le milieu MS/2 en fonction du temps. a : un gonflement important à l'extrémité, b : développement de l'embryon (flèches), c : Formation de racine (flèches) et allongement de la feuille engainante (flèche)



a



b



c

Planche 8: Développement des extrémités cotylédonaire sur MS/2, a : Allongement d'extrémité cotylédonaire âgée de 11 jours est très important, b : Développement de la feuille engainante d'une extrémité cotylédonaire âgée de 15 jours, c : Développement de la feuille engainante âgée de 22 jours

Ce type de protocole a été largement utilisé pour divers types d'études notamment celles portant sur le processus de régénération (Che et al., 2002, 2006 et 2007 ; Atta, 2008, Benmihoub, 2008 ; Brossard, 2009)

Les explants mis sur le milieu MS/2 conduisent à des structures organisées à caractères méristématiques. Selon Atta, 2008, le prétraitement sur MS/2 induit une réactivation des cellules du péricycle xylémien qui, par leurs divisions successives, donne naissance à des primordia pourvus d'une pseudo-coiffe et d'une zone méristématique (Travail en cours).

Plusieurs facteurs interviennent dans la réussite des mises en cultures *in-vitro*, donc la composition du milieu de culture joue un rôle primordial dans l'organogenèse.

L'influence du milieu de culture résulte de l'ensemble d'interactions des différents éléments qui les composent. Certains d'entre eux stimulent les processus du développement *in vitro*, d'autre par contre ont une faible influence sur l'organogenèse (Thorpe, 1980 ; Rugini et Caricato, 1995 ; Brhadda et al., 2003 ; Yakoub-Bougdal, 2005).

Nos résultats sont similaires de ceux obtenus par Barka, 2000, sur les embryons entiers du Palmier dattier variété Deglet-Nour, sur le milieu de culture MS₁₀. Les pourcentages de développement les plus élevés ont été obtenus avec les embryons sur le milieu MS₁₀.

Aussi, nos résultats sont performants que ceux obtenus par Benmihoub, 2008 où le taux de survie des extrémités du pétiole cotylédonaire est le plus élevé sur le milieu MS/2.

Néanmoins nous insistons que le protocole expérimental est différent avec les valeurs hormonales utilisées et rappelons que nos conditions sont celle établies par le labo de Paris VI (Projet de collaboration depuis, 2009)

Nous avons observé un brunissement sur nos échantillons ce qui est dû à la lumière, qui provoque l'oxydation des produits phénoliques.

Ce brunissement provoque la nécrose des explants. Les pourcentages de contamination sont presque négligeables pour les extrémités des pétioles cotylédonaire mais le taux de contamination est très important sur le milieu MS/2 pour les embryons et c'est le même résultat qui est observé par Benmihoub, 2008.

Les organes et les explants mis en culture ont révélé des différences morphologiques sous l'effet des deux milieux MS₁₀ et MS/2.

En effet l'emploi des différents régulateurs de croissance (2,4-D, Kinétine) s'est révélé très efficace pour le développement des extrémités cotylédonaire. Ces résultats confirment ceux obtenus par Bhaskaran et Roberta, 1995, Mater, 1989, Yatta et Fergani, 2007, Atta et al., 2008.

L'addition d'hormones au milieu entraîne selon leur nature et leur concentration des réponses variées surtout au niveau de la gaine cotylédonaire Ammar et *al.*, 1983.

En présence de 2,4.D + Kinétine, la gaine cotylédonaire manifeste une caulogénèse importante.

Dans notre travail, nous pouvons conclure que le développement des explants à savoir les pétioles cotylédonaire sur MS/2 avec la balance hormonal de 0.5 de 2.4-D et 0.05 de Kinétine, est plus important que celui des embryons MS₁₀.

Un résultat similaire a été obtenu par Semiria, 2013 sur *Atriplexhalimus* au bout de 11 jours sur milieu MS/2 mais contenant 2mg/l d'ANA.

A decorative border of palm trees surrounds the page. The top border consists of 15 palm trees. The left and right borders are vertical lines of 20 palm trees each. The bottom border consists of 15 palm trees.

Conclusion

Conclusion générale

Plusieurs méthodes classiques et modernes existent pour parvenir à la production, l'amélioration et à la multiplication des plantes. Chaque espèce requiert une méthode qui convient au mieux à ses spécificités et à ses exigences. Le palmier dattier mérite d'être étudié minutieusement, car la méthode classique basée sur les rejets s'est avérée inefficace, vu que c'est une méthode très lente et limitée, pour cela, nous nous sommes tournés vers la micropagation des embryons et des extrémités des pétioles cotylédonaire.

Ce modeste travail, sur le Palmier dattier, variété .Deglet-Nour sur laquelle on a appliqué la méthode de propagation in-vitro, afin d'obtenir un développement caulogène

Les résultats obtenus se résument ainsi :

La première étape : consiste en une germination *in-vitro* des graines de palmier dattier, var Deglet-Nour.

La germination des graines de Palmier dattier est de type tubulée remotive ; le pétiole et la graine cotylédonaire finissent par se nécroser lorsque leur rôle d'intermédiaire pour l'utilisation des réserves est achevé (Yakoub- Bougdal, 2005).

La deuxième étape : repose sur la culture des extrémités cotylédonaire et des embryons entiers sur deux types de milieux de base différents, le milieu de base MS₁₀ et le milieu MS/2.

Nous avons montré que les résultats des cultures dépendent essentiellement de la nature de l'explant utilisé, la mise en culture des embryons entiers et des extrémités cotylédonaire, montrent que les potentialités de proliférations ne répondent pas de la même façon vis-à-vis des éléments du même milieu de culture.

Ainsi, dans le cas de culture des extrémités cotylédonaire, sur les deux milieux (MS₁₀ et MS/2), on a obtenu un taux élevé de caulogénèse, par rapport aux embryons. On remarqué aussi que la durée de la réponse est meilleure dans le cas des extrémités cotylédonaire par rapport aux embryons entiers, pour les deux milieux de culture utilisés.

Troisième étape : la comparaison entre les milieux témoins, et le milieu avec hormones.

Dans un premier temps, nous avons montré que les mêmes développements morphologiques sont observés au niveau des deux milieux MS₁₀ et MS/2 sauf que la nature et la durée de la

réaction est différente. Sur le milieu MS₁₀ on note une réponse rapide au début de l'expérimentation par rapport au milieu MS/2. Mais progressivement le développement est meilleur sur le milieu MS/2. Le milieu MS/2 est donc plus performant.

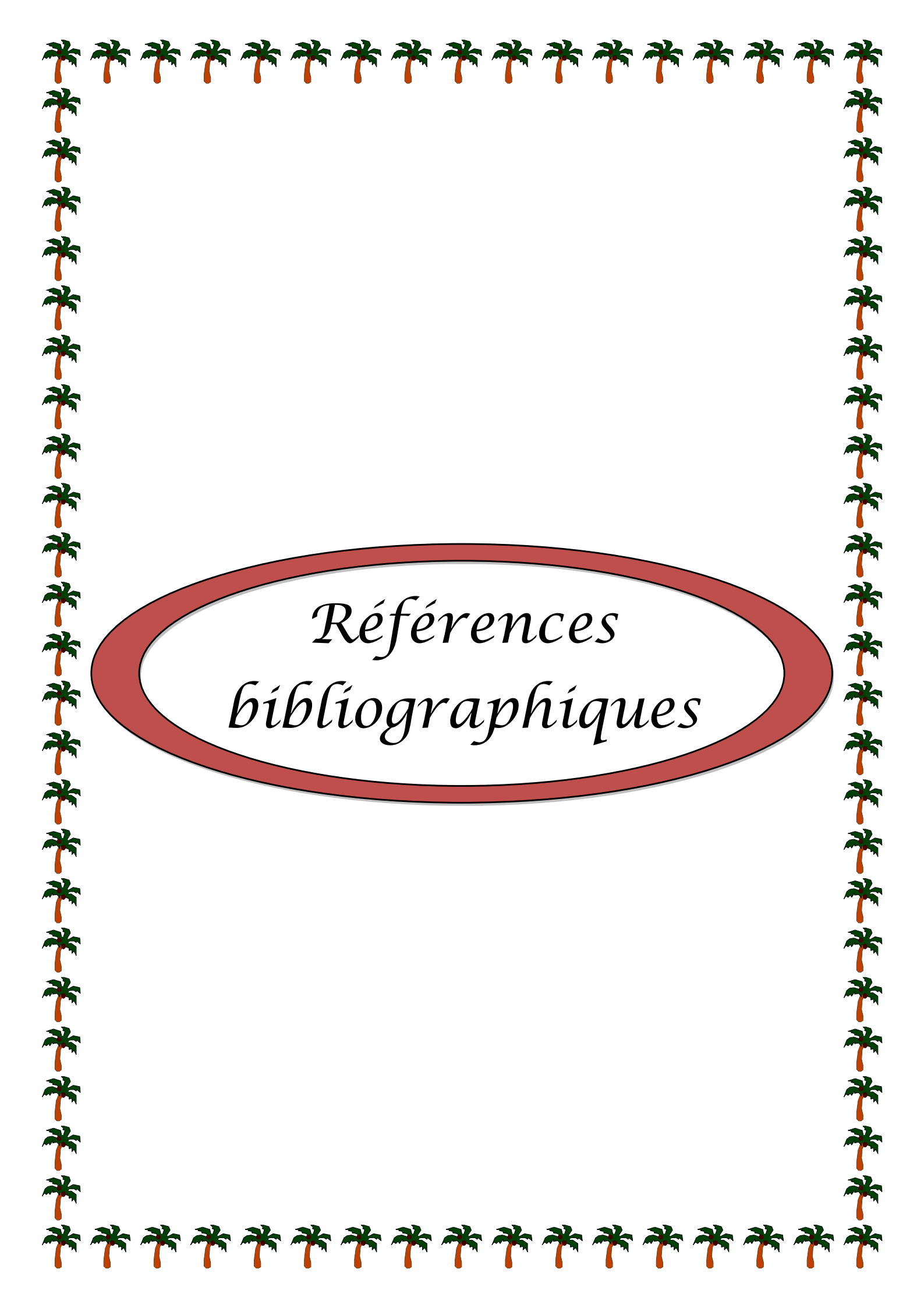
Dans un second temps, nous avons étudié l'influence des deux balances hormonales sur le développement des explants.

Sur le milieu additionné de la balance hormonale de 0.5mg/l de 2.4-D, 0.05 mg/l de Kinétine, l'explant montre un meilleur développement

Enfin, nous espérons avoir pu contribuer un peu, par ce présent travail à donner une idée sur le comportement des embryons et des extrémités du pétiole cotylédonaire du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) var Deglet –Nour vis-à-vis de ce protocole de régénération.

Perspectives

- Il sera souhaitable de reprendre ces travaux et de les optimiser en essayant cette fois-ci de déterminer une caulogénèse poussée à partir d'un développement rhizogène et de repérer les différents gènes de méristème apical caulinaire avec des coupes histologiques.

A decorative border of palm trees surrounds the page. The top and bottom edges feature a horizontal row of palm trees. The left and right edges feature a vertical column of palm trees. The palm trees are stylized with green fronds and brown trunks.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Ammar S, 1983. La culture des tissus des plantes issues de graines appliquées à la multiplication végétative du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Thèse de doctorat Spé-Fac.SC.BIO., Tunis.

Anonyme, 1996. Kitchen culture .Kits: <http://www.kitchenculturekit.com>

Atta R, 2008. Composantes cellulaires et moléculaires de la régénération des meristems caulinares chez *Arabidopsis thaliana L.* (heynh). Thèse de doctorat de l'université de Pierre et Marie Curie (Paris 6). Pp, 3-33.

Bajaj Y.S.P.1987. Biotechnologie in agriculture and forestry .in amélioration des espèces cultivées .A.Gallais et Bernneret ,1992.pp225.

Barrow B. 1998. A monograph of *Phoenix dactylifera L.* Kew bulletin, 53 : 513-575.

Barrow S. 1998. A revision of *phoenix*. Reprinted from kew bulletin vol. 53. Part 3. 544-551 p.

Barka O, 2000. Influence des régulateurs de croissance sur les embryons et les extrémités du pétiole cotylédonaire se Palmier dattier (*Phoenixdactylifera L.*) var Deglet-Nour cultivé *in-vitro*. Thèse de diplôme d'ingénieur d'Etat en Agronomie.96p.

Battesti V, 2004. Odeur *sui generis*. Le subterfuge dans la domestication du Palmier dattier (Tassili n'Ajjer, Algérie). Anthropozoologica 39 (1) : 301-309.

Belguedj M. 2002. Etude du marché des dattes 1 : Evaluation du secteur de dattes en Algérie.

Ben Abdallah A., 1990. La phoeniciculture. Les systèmes agricoles oasiens. In : Dollé V., **Toutain G. (eds.)**. Options Méditerranéennes : Les Systèmes Agricoles Oasiens, 1988/11/19-21, Tozeur (Tunisia). Séminaires Méditerranéens Série A. n° 11. CIHEAM, Montpellier. Pp. 05-120. <http://om.ciheam.org/om/pdf/a11/CI901488.pdf>

Benkhalifa A, Ennacer M et Bouguedoura N (2010) le Palmier dattier en algérie situation, contraintes et apports de la recherche [Conférence] // Biotechnologies du palmier dattier. - PARIS : institut de recherche pour le développement I.R.D, - pp. 16-20.

Benmihoub S, 2008. Influence des milieux de culture sur la croissance des extrémités cotylédonaire et des embryons du dattier (*Phoenix dactylifera L.*) var Deglet- Nour cultivés in- vitro Thèse de diplôme d'études supérieure en sciences de la nature. U.M.M.T.O. 77p.

Ben Salah M et Hellali R, 2003. Description phéno-mologique de 15 cultivars tunisiens du Palmier dattier (*PhoenixdactyliferaL.*). Bulletin des RessourcesPhytogéniques IPGRI.148 : 10-18.

Ben Salah M, Hellali, R, 2004. Evaluation des descripteurs phéno-mologiques du Palmier dattier (*Phoenixdactylifera L.*) Institut des régions arides, Médenine, Tunisie. Mémoire en ligne. p81-85.

Berrichi k, Azzoug R, Yatta D, et Bougudil, 2013. Participation avec un poster intitulé « le palmer dattier ; une recherche développement pour une agriculture durable et une préservation , de l'écosystème saharien ».

Boccon GibodJ,Jalouzot R , 1989. Les biotechnologies en horticulture, possibilités et perspectives .In La culture *in vitro* et ses applications horticoles .Augé R ,Beauchene G.Edt .JB Bailliéte pp 91-131.

Bommineni U R , Jauhar PP, 2003.Regeneration of plant through isolated ,culture of tissu . Wheat .plant sci .116; 197-

Bouguedoura N, 1979. Contribution à la connaissance du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Etude des productions axillaires. Thèse Doc 3^{ème} cycle. U.S.T.H.B. Alger.64p.

Bouguedoura N, 1991- Connaissance de la morphogenèse du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatif et reproducteur. Thèse Doctorat d'Etat, U.S.T.H.B, Alger.

Bouguedoura N, 2012. Le palmier dattier : Développement morphogénétique des appareils végétatifs et reproducteurs. Ed universitaire Européenne.180p.

Brhadda N, Aboussalim A, Walali L.D.M, 2003. Effets du milieu de culture et de la lumière sur l'embryogenèse somatique de l'olivier (*Olea europea L.*) Cv picholine marocaine, Fruit 85 (3),p.1-14.

Briggs W B, 1964. Phototropis; in higher plants in physiology academic press :1; 223-271.

Chabane D, Assani A., Bougdoura N, Haicour R. & Ducreux G., (2007) – Inducing of callus formation from difficile date palm protoplasts by means of nurse culture. C.R. Biologies 330.392-401.13 p.

Che P, Gingerich D J, Lall S, Howells H, 2002. Global and hormone induced gene expression change during shoot development in *Arabidopsis thaliana* L. Plant Cell .14, 2771-2785.

Che P, Lall S, Nettleton D, Howells H, 2006. Gene expression programs during shoot, root, and callus development in Arabidopsis tissue culture. Plant Physio. 141, 620-637.

Che P, Lall S, Howells H. 2007. Developmental steps in acquiring competence for shoot development in Arabidopsis tissue culture. Planta, 227, 1186-1194.

Collet GF et LE CL , 1988. Micro propagation de porte-greffes du pommier et du poirier .Enracinement in vitro de *Pyrus malus* L.(M25,26,27,MM106 ,M9 type jork) et *Cydonia oblonga* Mill.(A) .Revue suisse Vitic .Arboric ,Hortic .Vol 20(2) :131-138.

Cronquist A, 1991. The evolution and classification of plants. New Phytologist, vol.117. N^o 3. 5.

Dowson et Aten , 1963. Composition et maturation, récolte et conditionnement des dattes. Ed .F.A.O. Rome ,397p.

Djerbi H, 1991- Biologie du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) : Voie de propagation des clones résistants au Bayoud et de haute qualité. *Ciheam-option Méditerranéennes* n^o14, pp : 31-38.

Djerbi M, 1994. Précis de phoeniculture : FAO.192p.

El Hadrami L, 1993. Rapport de Synthèse de l'atelier « culture in vitro » de Palmier dattier *Ciheam- Option Médi.* Maroc.167-176.

Espanoza N, Lizzarraga R Siguna SC, Brayn, J, Dodds H, 1992. Tissue culture: **Micropropagation** .Conservation and export of potato gerplasm .CIP Reshjerche Ghide ,ed. CIP ,19p.

Espiard E, 2002. Introduction à la transformation industrielle des fruits. Ed. Teach et Doc. Lavoisier, Paris. Pp 147-155.

Gilles P, (2000). Cultiver le Palmier dattier [Ouvrage]. - DJIBOUTI : la librairie du cirad France - pp. 29-78.

Gray DG, Compton N.F, Harell R .C, Cantliffe DJ., 1995. Stomatic embryogenesis and the technology of synthetic seed in somatic Embryogenesis on various potato Tissues from a range of genotypes and ploidy levels Seabrook JEA. Douglass L K ., 2001. Plant cell report (2001) 20 .175-182.

Hussey G et Stacey ,N J .,1981. *In vitro* propagation of potato (*Solanumtuberosum*of potato of photoperiod on in vitro tuberisation of potato- *S tuberosum*- .JEA Seabrook.

Iossi E., Moro, F.V., Sader,R,R .2006 seed anatomy and germination of Phoenix roebelaniio'brien (Arecaceae) Brasil, semen 28, 121-128.

IPIGRI. 2005. Descripteurs du Palmier dattier (*Phoenixdactylifera. L*). INRA, Algérie.

LÊ C L, 2001, Identification of potato by AFLP. In Conservation des pommes de terre *in vitro* et caractérisation des variétés cultivées en suisse.

LÊ C, L, Thomas, D, Nowbuth, L ., 2002. Conservation des pommes de terre *in vitro* et caractérisation des variétés cultivées en suisse .suisse Agric 34(3):133-136.

Margara J., 1989. Base de la multiplication végétative .Les méristèmes et l'organogenèse. Institut National de la recherche Agronomique.

Meerow A. W., 2004. Palm Seed Germination. Florida: Cooperative Extension Service, 1991. (-Bulletin 274), 10p.

Moulay H, 2003. Le Palmier dattier base de la mise en valeur des oasis au maroc. Techniques phoenicicolesetcréationd'oasis. Inra p 61-82.

Murashigue T and F Skoog., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissus Cultures .PhysiologiaPlantarum, 15:473_497.

Munier P., 1973- Le palmier dattier. Ed – Maisonneuve-Edward Arnold, London. 217p.

Nowbuth et CL LE .Agroscope RAC changines ., 2005. Teneur non- conforme en ADN comme indicateur de variation somaclonale chez la Pomme de terre .suisse agric .37 (6):257-266.

Nozeran R,Bancilhon L ., 1972. Les cultures in vitro en tant que technique pour l'approche de problèmes posés pour l'amélioration des plantes .In Ann. Amélioration .Plantes 22(2),pp 167-185

- Ochette C, 2005.** Growth, quality and biotechnology, WFP publisher.Finland.
- Oihabi A, 1991-** Effet des mycorhizes à arbuscules vésiculaires sur la maladie du Bayoud et de la nutrition du palmier dattier. Ph –D thèse à l’université de Marrakech, 199p.
- Ouennoughi M, 2005,** Maintien des pratiques de cultures phoenicicoles oasiennes,p15.
- Peyron G, (2000),** Cultiver le Palmier dattier. Groupe de Recherche et d’Information pour le Développement de l’Agriculture d’Oasis (GRIDAO), 109p
- Pintaud J-C, 2010.** Modèle de domestication et structure de l’agrobiodiversité du Palmier dattier (*Phoenixdactylifera L.*). Ed. France. pp 107-112.
- Pintaud J-C, 2011.** Origine, histoire de la domestication et bio- géographie du Palmier dattier. 1^{er} Symposium international du Palmier dattier. 13 et 14 November. Ed. ISHS, Algérie.
- Riedacker A ,1993.**physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi arides, Ed John Labbey. Euro text : 489p.
- Rousselle P, Robert Y, Grossuer J.C, ed ., 1996.**La Pomme de terre production, Amélioration, Ennemis et Maladies. Utilisation éditionDoun P278.
- Rugini E, et Caricato G., 1995.** Somatic embryogenesis and recovery from mature tissues of olives cultivars (*Olea europea L.*) “Canino” and “Moraiolo”. Plant cell. Rep .14, P.257-260
- shirlyn MCD. levey .1993 .plant cell tissue and organe culture .1993.34; 43-51.
- Si-Dehbi F, 2009-** Contribution à la production de suspensions cellulaires à partir d’explants végétatifs et floraux du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Mémoire de Magister 108p.
- Sibi M, 1981.** Hérité de variantsépigéniques obtenus par culture des tissus in vitro chez les végétaux supérieurs .ThèseDoct ès Sci ; Univ Paris Sud, Orsay, 280 p.
- Sibokeur, O, Mimouni, Y. 2009.** Mise au point d’une technique d’extraction de sirops de dattes ; comparaison avec les sirops à haute teneur en fructose (HFCS) issus de l’amidonnerie. Université KASDI MERBAH. Ouargla, p 132.
- 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.
- Téoulé E .,1999.** Biotechnologie et Amélioration des plantes in Biotechnologie Seriban R. Ed. TEC &DOC p 565-589.

Terral J.F, Newton C., Ivorra S., Gros-Balthazard M., Tito De Morais C., Pico S., Tengberg, M., Pintaud, J.C. 2012. Insights into the historical biogeography of the date palm (*Phoenix dactylifera L.*) using geometric morphometry of modern and ancient seeds. Journal of Tisserat B. & Demasson D.A. (1980) – A histological study of development of adventive embryos in organ cultures of (*Phoenix dactylifera L.*). Ann. Bot, 46: 465-472. Biogeography 39 (5): 929-941.

Thorpe T.A., 1980. Organogenesis *in vitro*: structural physiological and biochemical aspects. In Vasil IK. (ed) *International review of cytology*. Suppl. II, p. 71-111.

Tourte Y, Bordonneau M, Henry M., 2005. Le monde des végétaux, organization, physiology et génétique. édition Dunod. p 384.

Yakoub-Bougdal S., 1984. Etude des radiations rouges sur des méristèmes et sur des embryons en culture *in vitro* chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Approches quantitatives. D.E.A. Université Pierre et Marie Curie (Paris IV).

Yakoub-Bougdal S., 1987. Etude des inductions morphogénétiques chez le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) var Deglet-Nour en culture *in vitro*. Analyses cytophotométriques et autoradiographiques. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI.

Yakoub-Bougdal S., 2005. Morphogénèse *in vitro* du Palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) et de l'Olivier (*Olea europea L.*) var Chemlal. Thèse. Doctorat d'Etat en biologie végétale. Encadrée par J. Bonaly, Paris XI. Soutenu à l'Univ. Mouloud Mammeri. Tizi-ouzou. 191p.

Yves C., 1984. La culture sans sol. in science et vie, série (la nouvelle botanique) mars 1984, 146:68-75

Zaid A. 2002. Date palm Research and Development Unit. Plant Tissue Culture Laboratory. United Emirates University, 81908, Al Ain, United Arab Emirates.

Zrid J.P., 1988. Culture de cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques. Ed. presses Polytechniques Romandes.