

**INFLUENCE DE L'EQUILIBRE HORMONAL SUR LA
CALLOGENESE ET L'INITIATION DE L'EMBRYOGENESE
SOMATIQUE CHEZ LE PALMIER DATTIER
(*Phoenix dactylifera* L.) : VARIETE DEGLET NOUR**

KHELIFI L., KHELIFI-SLAOUI M., MORSLI A. et OURDANI L.
L-RGB, Institut National Agronomique, EL Harrach, Alger.
lkhelifi@wissal.dz

R E S U M E

Des fragments de cœurs de rejets de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) Deglet noir ont été utilisés pour étudier l'effet de la balance hormonale (auxine/cytokinine) sur leurs aptitudes à la callogénèse et à l'embryogénèse somatique. Les résultats obtenus montrent que la réactivité des explants dépend directement du facteur étudié (balance hormonale). Le pourcentage de callogénèse le plus élevé (25 %) a été enregistré sur le milieu T 12 (2,4-D/KIN+BAP =100/ 2+0.5). Dans ces conditions, la croissance des cals se fait lentement et atteint après neuf mois de culture 139.5 et 115 mm² sur les milieux T10 (100/1 + 0.5) et T8 (100 / 0.5 + 1.5). En outre, seuls les cals blancs translucides obtenus sur les milieux T9 (100/0.5+2), T10, T11(100/1.5+0.5) et T12 ont développé des nodules puis des embryoides après passage sur milieu de maturation (sans hormones de croissance, enrichie en saccharose et appauvri en charbon actif). Le nombre moyen d'embryoides par cal varie de 6.5 à 8.

Mots clés : Callogénèse - Deglet noir - Embryons somatiques - Palmier dattier - *Phoenix dactylifera* L.

S U M M A R Y

Different hormonal balances (auxine/cytokinine) were used to study there effects on the aptitudes for callogenesis and somatic embryogenesis of Tissue fragments of date palm (*Phoenix dactylifera* L. var. Deglet nour). The results show that the reactivity of explants depends directly on hormonal balances. The highest percentage of callogenesis (25 %) was recorded on the medium (100 mg/l of 2,4-D, 2 mg/l of KIN and 0.5 m/l of BAP). In these conditions, the callus growth slowly and reaches after nine months of culture 139.5 and 115 mm² on the mediums T10 (100/1 + 0.5) and T8 (100/0.5 + 1.5). Moreover, only the translucent white callus obtained on the mediums T9 (100/0.5+2), T10, T11(100/1.5+0.5) and T12 developed nodules then embryoïdes after passage on medium of maturation (growth hormones free, plus sucrose and activated charcoal). The average number of embryoïdes per callus varies from 6.5 to 8.

Key words : Callogenesis - Deglet nour - Date palm - *Phoenix dactylifera* L. - somatic Embryos

م ل خ ص

تناول هذا البحث دراسة تأثير الميزان الهرموني (auxine/cytokinine) على قابلية أنسجة نخيل البلح، صنف دقلة نور، للتكلس و تكوين الأجنة الجسدية. بينت النتائج المتحصل عليها بأن تفاعلية الأنسجة تتأثر مباشرة بالميزان الهرموني المستعمل، و بالتالي فإن أحسن النتائج من حيث نسبة التأكلس ، 25 %، قد تم الحصول عليها مع الوسط T 12. أما من حيث حجم الكالوسات فإن الميزانين T 10 و T 8 هما الأكثر ملاءمة ، و من جهة أخرى فإن الكالوسات اللزجة و الشفافة هي الوحيدة التي يمكنها التطور إلى عقد ثم شبه أجنة جسدية بعد تحويل الكالوسات إلى وسط خال تماما من الهرمونات و الفحم و لكن مشبع بالسكر، ففي هذه الظروف يمكن لكل كالوس اعطاء ما بين 6.5 و 8 شبه أجنة.

كلمات المفتاح : تأكلس، دقلة نور، نخيل البلح، أجنة جسدية.

INTRODUCTION

Le palmier dattier constitue l'élément fondamental de l'écosystème oasien où il joue un rôle économique primordial, grâce à la production de la datte et de différents sous-produits (pâte, farine, sirop, vinaigre, levure, alcool, confiserie...) qui sont à la base de l'alimentation humaine et animale dans les régions sahariennes. En outre, il assure sur le plan social la stabilité des populations qui vivent dans ces régions, et dont le nombre est estimé en Algérie à 2.2 millions d'habitants (Ministère de l'agriculture, 1994).

La culture du palmier se heurte malheureusement à de graves problèmes tant au niveau de l'extension de la palmeraie, qu'au niveau de la qualité et de la disponibilité du matériel végétal de multiplication. Le problème phytosanitaire est considéré comme la première contrainte qui freine considérablement le développement de cette culture. La plus redoutable maladie qu'est la fusariose (ou Bayoud, causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*) cause d'énormes dégâts. Ce fléau a déjà détruit 2/3 de la palmeraie Marocaine en un siècle. Il est en train de gagner du terrain en Algérie et menace les palmeraies Tunisiennes (LOUVET et TOUTAIN, 1973 ; DJERBI, 1988).

Différents moyens de lutte ont été utilisés afin de protéger cette plante et d'assurer son développement normal : pratiques culturales, techniques de luttés biologique, chimique ou intégrée. Ces moyens restent cependant encore peu efficaces vis-à-vis du pathogène. La lutte génétique, qui consiste en l'utilisation de variétés résistantes, reste le moyen de lutte le moins astreignant, le plus économique et le moins polluant (MESSIAEM, 1981).

Le développement de la phoéniculture dépend également de la levée de plusieurs contraintes dont les principales sont la sécheresse, la salinité, la désertification et l'érosion génétique. Le vieillissement des palmeraies est une autre contrainte non négligeable puisque 30 % des palmiers en Algérie ont dépassé l'âge de production (MESSAR, 1996) d'où la nécessité d'un rajeunissement urgent des palmeraies.

La multiplication sexuée de cet arbre produit des descendants hétérogènes (francs) composés de plants mâles et femelles indiscernables avant la floraison. La multiplication de variétés et clones intéressants (qualités agronomiques et technologiques et résistance aux maladies) peut se faire par la récupération et plantation de rejets (Djebbars). Ce mode de propagation reste cependant limité à cause du nombre restreint de rejets émis par palmier. Si on ajoute l'aspect sélection d'arbre de qualité, le nombre de rejets sera encore beaucoup plus réduit, d'où la nécessité de recourir aux techniques modernes de multiplication. En effet, l'utilisation de l'outil biotechnologique fondé sur les techniques de culture de tissus constitue sans doute le moyen le plus prometteur pour la reconstitution des palmeraies. Les travaux de recherche pour la maîtrise des techniques de propagation du palmier dattier « in vitro » ont été initiés vers la fin des années 60. Ils sont basés essentiellement sur le

développement de l'organogenèse et l'embryogenèse somatique (AIT- CHITT, 1989 ; EL HADRAMI *et al.*, 1998).

L'embryogenèse somatique offre des potentialités et des applications énormes : rapidité, facilité d'utilisation ainsi qu'un taux de multiplication très élevé en comparaison avec l'organogenèse. Elle constitue par conséquent, une méthode fiable d'obtention rapide et en grand nombre de plants de palmier dattier de qualité (CHEIKH, ZAID et AIT-CHITT, 1989). En outre cette technique a montré à travers les expériences menées aux Emirats Arabes Unis (ZAID, 2002), que le taux de plants non conformes à l'âge de la production ne dépasse pas 1%. Ce pourcentage reste inférieur au seuil de tolérance statistique de 5%.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail pour lequel la voie de l'embryogenèse somatique a été adoptée. Pour ce faire, deux objectifs immédiats ont été fixés:

- Etude de l'effet de différentes concentrations d'auxine (2,4-D = Acide dichlorophénoxyacétique) et de cytokinines (KIN = Kinétine et BAP = Benzyladénine) sur l'induction de la callogenèse sur des fragments de cœur de rejets de la variété Deglet nour.
- Induction de l'embryogenèse somatique sur les cals obtenus.

MATERIEL ET METHODES

1.- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour réaliser ce travail est prélevé au niveau d'un verger phoenicicole situé à EL Oued, (Daira de Débila, Commune de HASSANI ABDELKRIM, circonscription de Sahn El Marchoume). Il s'agit de trois rejets poussant à la base de palmiers femelles de la variété Deglet Nour. Ces rejets sont âgés de 2 à 4 ans et d'un poids moyen de 3 kg.

2.- Milieux de culture

▪ Milieu de culture de base

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). Il a donc été adopté comme milieu de culture de base avec quelques modifications :

- diminution de la concentration de nitrate d'ammonium (NH_4NO_3) de 1650mg/l à 200 mg/l conformément aux travaux de TISSERAT (1979) pour éviter le phénomène de vitrification des tissus.

- Addition de 100mg/l de KH_2PO_4 et de 170 mg/l NaH_2PO_4 (TISSERAT, 1979) pour une améliorer la réactivité des tissus.
- addition du saccharose (45 g/l), du charbon (3 g/l) actif et de l'agar (8 g/l) (SAKA, 1997).

▪ Balances hormonales utilisés

La plupart des travaux relatifs à l'induction de cals embryogènes à partir de différents tissus de palmier dattier rapportent l'utilisation de fortes concentrations de 2,4-D, de l'ordre de 100 mg/l (REYNOLDS et MURASHIGE, 1979; TISSERAT, 1979; DAGUIN et LETOUZE, 1989), plusieurs auxines comme l'ANA (Acide naphthalène acétique) et l'AIA (Acide indole acétique) (RHISS *et al.*, 1979) et de cytokinines comme la KIN (kinétine), la BAP (Benzyladénine) et la 2ip (Isopentyl-pyridone) (DAIKH et DEMARLY, 1987; BOUGUEDOURA, 1991).

Ainsi, douze combinaisons hormonales ont été utilisées avec des rapports différents d'auxine (2,4-D) et de cytokinines (BAP et KIN). Les rapports sont toujours en faveur de l'auxine (Tableau 1).

L'induction de l'embryogenèse somatique se fait généralement dans des milieux dépourvus d'hormones ou bien ne contenant que des concentrations très faibles (ZAID et TISSERAT, 1983). SAKA (1997), préconise le même milieu de base (MS, 1962 modifié), sans hormones de croissance mais enrichi en saccharose (60g/l) et appauvri en charbon actif (0.2 g/l au lieu de 3 g/l) pour induire l'embryogenèse somatique. Cette étape intervient après la formation des cals c'est-à-dire après neuf mois de culture.

Tableau 1 : Combinaisons hormonales utilisées

Milieux	Régulateurs de croissance (mg/l)			Rapport (2,4-D/(BAP+KIN))
	2,4-D	KIN	BAP	
T1	10	0.5	0.5	10 (50% BAP, 50% Kin)
T2	20	0.5	0.5	20 (50% BAP, 50% Kin)
T3	40	0.5	0.5	40 (50% BAP, 50% Kin)
T4	60	0.5	0.5	60 (50% BAP, 50% Kin)
T5	80	0.5	0.5	80 (50% BAP, 50% Kin)
T6	100	0.5	0.5	100 (50% BAP, 50% Kin)
T7	100	0.5		66.6 (66% BAP, 33% Kin)
T8	100	0.5		50 (75% BAP, 25% Kin)
T9	100	0.5		40 (80% BAP, 20% Kin)
T10	100		0.5	66.6 (33% BAP, 66% Kin)
T11	100		0.5	50 (25% BAP, 75% Kin)
T12	100		0.5	40 (20% BAP, 80% Kin)

Les milieux sont répartis dans des Erlenns meyers à raison de 100 ml après avoir ajusté leur pH à 5.7 à l'aide de NaOH ou HCl (0.1N). Les régulateurs de croissance, le charbon actif végétal (3g/l) et l'agar (8g/l) sont ensuite additionnées aux milieux après leur répartition dans les récipients. Leur stérilisation est ensuite réalisée par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

3.- Désinfection du matériel végétal

Les rejets sont tout d'abord débarrassés de leurs palmes pour dégager soigneusement leurs cœurs. Ces derniers sont alors découpés en fragments d'environ 5 cm et désinfectés sous la hotte à flux laminaire stérile selon la démarche suivante :

- Immersion dans une solution de MERCRYL LAURYLE (Mercurbutol) pur pendant 5 minutes suivie de trois cycles d'agitation puis rinçage dans de l'eau distillée stérile.
- Immersion dans une solution fongicide (BENOMYL : 4g/l) pendant 15 minutes, suivie de trois cycles d'agitation puis rinçage dans de l'eau distillée stérile.
- Immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium (12°) + permanganate de potassium (300mg/l) pendant 20 minutes, suivie de trois cycles de rinçage dans de l'eau distillée stérile.

Les cœurs sont par la suite découpés, dans des boites de pétri préalablement stérilisées (garnies de papier buvard), en petits fragments de 0.5 à 0.8 cm. Afin d'éviter le brunissement des tissus, les explants sont plongés, conformément aux travaux de TISSERAT(1979), dans une solution d'antioxydant à base d'acide citrique (150 mg/l) et d'acide ascorbique (100mg/l). Par la suite, les explants sont de nouveau plongés dans une solution d'hypochlorite de sodium (eau Javel 12° chlorométrique) pendant 15 minutes puis rincés 3 fois à l'eau distillée stérile.

4.- Conditions physiques de culture

Les boitesensemencées d'explants sont placées dans un incubateur, dans l'obscurité totale durant toute la phase de culture et à une température de 25°C. Le transfert des explants sur des milieux frais est réalisé toutes les quatre semaines. Le premier repiquage est effectué 10 jours après la mise en culture. Afin d'induire l'embryogenèse somatique, les cultures seront placées dans un phytotron à une température de 24°C et sous une photopériode de 16h..

5.- Observations et analyses

Les paramètres suivants sont pris en considération, pour l'évaluation de l'effet de chaque milieu de culture :

- Pourcentage de contamination des cultures.
- Taux de réactivité des explants.
- Surface moyenne des cals (mm²).
- Couleurs et textures des cals.
- Nombre moyen d'embryoïdes (tous stades confondus) par cal.

L'analyse statistique consiste en une ANOVA, complétée par le test de la pds en cas de signification du test.

RESULTATS

1.- Evolution des contaminations en fonction des repiquages

Les contaminations observées sont dans la majorité des cas d'origine endogène. Elles sont de deux types, fongiques et bactériennes. Ces dernières sont prédominantes.

Après un mois de culture, le taux de contaminations moyen (tous milieux confondus) est de 23.07 %. La figure 1 illustre l'évolution du pourcentage de contaminations dans le temps et en fonction des repiquages. Les résultats montrent que le pourcentage de contaminations le plus élevé coïncide avec la phase chaude de l'année (juillet – août : 3^{ème} repiquage) où il atteint environ 55% des explants en culture. Il chute par la suite pour atteindre au septième repiquage 18% (figure 1).

2.- Réactivité des explants

La réactivité des explants diffère d'un traitement à un autre. Certains explants ont manifesté, en plus des contaminations, un problème de brunissement ayant entraîné l'inhibition de leur croissance puis leur dégénérescence. Ce phénomène est observé malgré le respect de la fréquence des repiquages sur milieux frais. Les explants des milieux T1, T2, T3, T4 n'ont pas du tout réagis, et ce, même après une année de culture. Par contre, les explants cultivés sur les milieux T5 à T12 ont montré un gonflement des tissus après seulement trois à quatre mois de culture.. Les proliférations cellulaires apparaissent, dans la majorité des cas, d'abord au niveau des points de section des explants favorisant l'émergence de minicals à peine visibles à l'oeil nu. Après cinq mois de culture ces mêmes explants montrent le début d'une callogenèse réelle. Les cals prennent ensuite de

l'ampleur au cours des semaines suivantes et s'étendent peu à peu pour couvrir l'ensemble de l'explant (planche 1).

La figure 2 illustre les pourcentages de callogenèse obtenus pour les milieux T5 à T12 après neuf mois de culture. Les meilleurs pourcentages, 20 % et 25 %, sont obtenus respectivement sur les milieux T5 et T12 : avec les plus fortes concentrations de 2,4-D en présence de BAP et KIN, à égales concentrations (T5) mais surtout lorsque la concentration de KIN = 4 fois celle de BAP (T12)

$$T5 = \frac{[2,4-D]}{[BAP]+[KIN]} = \frac{80}{0.5+0.5} = 80$$

$$T12 = \frac{[2,4-D]}{[BAP]+[KIN]} = \frac{100}{0.5+2.0} = 40$$

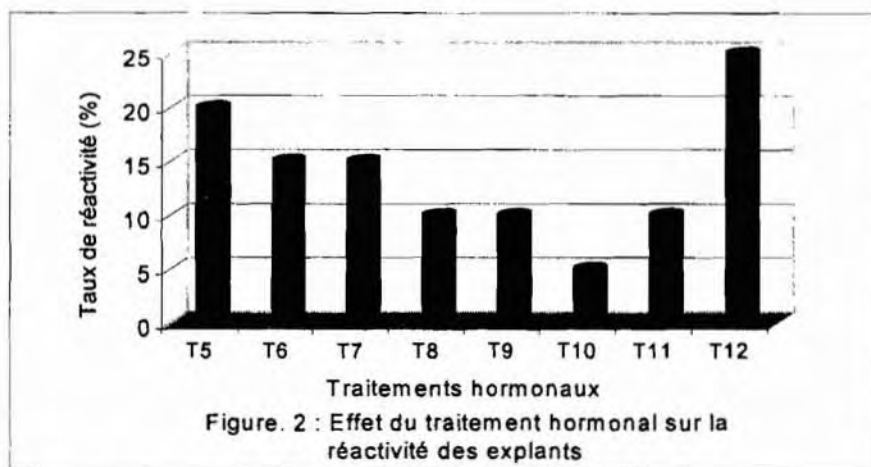
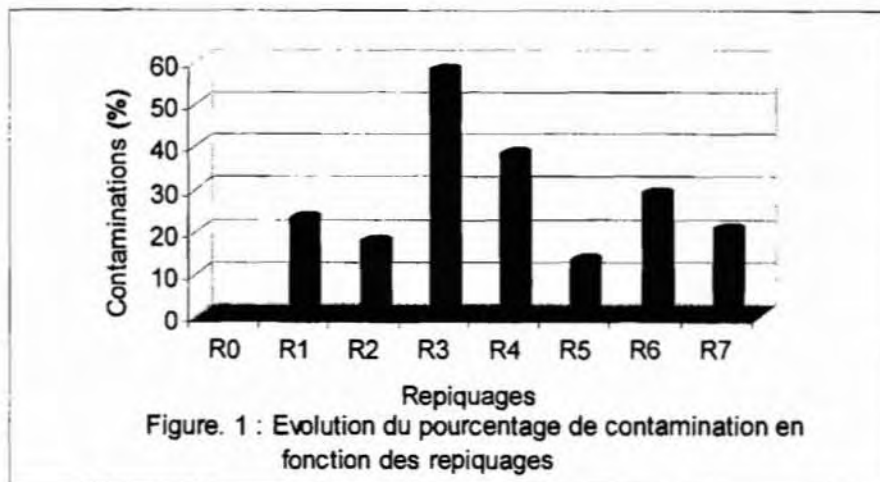
On pourrait donc conclure que la variété Deglet Nour semble mieux répondre en callogenèse aux fortes concentrations de 2,4-D (80 à 100 mg/l) en présence d'un mélange cytokinique de BAP et KIN en Faveur de la KIN.

Les autres milieux n'ont monté qu'une faible callogenèse (10 à 15 %). Le milieu T10 est le moins callogène avec un taux de 5%.

3.- Surfaces moyennes des cals

La figure 3 montre une évolution de la surface moyenne des cals en fonction du temps et des milieux testés. Après neuf mois de culture la surface moyenne des cals varie de 56.5 mm² à 139.5 mm².

Les milieux T10 et T8 donnent les meilleurs résultats suivis par les milieux T11, T9 et T12. Par contre, les trois autres milieux (T7, T6 et T5) ont manifesté une faible callogenèse. L'effet de la balance hormonale se montre donc significatif sur la callogenèse. La comparaison des moyennes deux à deux par le test de la pdds montre des différences significatives entre les traitements appliqués (deux groupes homogènes : A (T8 et T10) et B (T5, T6 et T7) et les autres traitements (T11, T9 et T12) sont chevauchants entre les deux groupes précédents (figure 3).



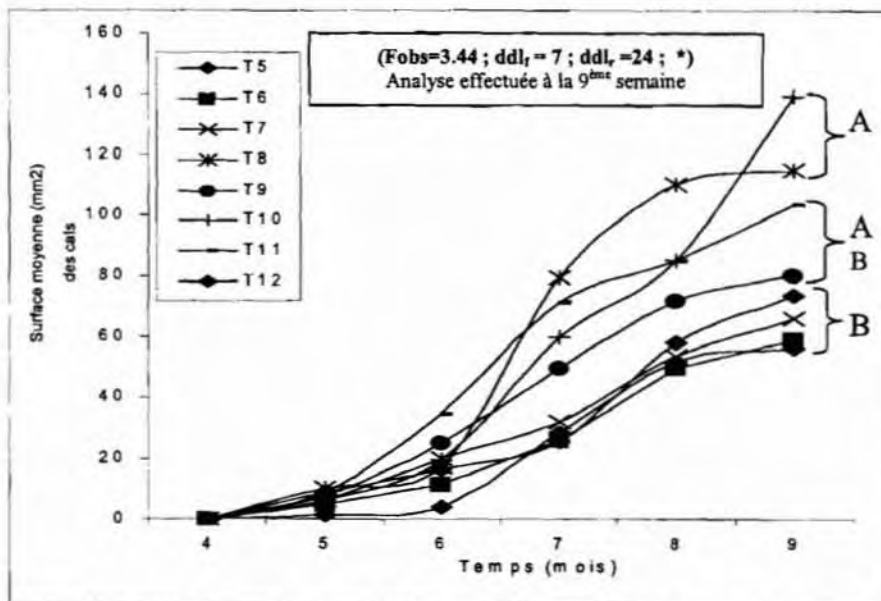


Figure 3 : Evolution de la surface moyenne des cals en fonction du temps et de la composition hormonale

Par ailleurs, il faut signaler que les milieux T10 et T8 qui ont montré les plus gros cals ont manifesté le plus faible taux de callogenèse, et les milieux T12 et T5 qui ont donné les petits cals ont manifesté les meilleurs taux de callogenèse.

4.- Couleurs et textures des cals

En plus des caractères liés à la croissance, les cals obtenus diffèrent aussi par leur coloration et leur texture (planche 1). Certains cals manifestent, à un faible pourcentage, une hyperhydricité marquée qui ne présente aucune influence sur leur croissance. Cependant, le type et la couleur du cal dépendent directement de la balance hormonale utilisée. Ainsi, deux types de cals ont été observés (tableau 2):

- ◆ Cals friables, translucides et rarement durs et de couleur souvent blanche donnant naissance à de nombreux nodules puis embryoïdes (= cals embryogènes).
- ◆ Cals compacts, de couleur beige ou brune finissant le plus souvent par dégénérer.

Les meilleurs résultats en terme de cals embryogènes sont obtenus avec les traitements T9, T10, T11 et T12 (tableau 2). Hormis le T11, l'ensemble des trois autres traitements ont donné sensiblement les mêmes résultats en terme de rendement en structures embryogènes de type embryoïdes (figure 4). Ces résultats sont obtenus sur des cals friables translucides (planche 1).

Tableau 2 : Variation de la Couleur et de la Texture des cals en fonction du traitement hormonal

*	Couleur	Texture	Structures embryogènes
T5	Blanc, beige ou brun	Friables et /ou vitrifiés	aucune
T6	Blanc, beige ou brun	Friables et /ou vitrifiés	aucune
T7	Blanc ou brun	Friables ou durs	aucune
T8	Blanc, beige ou brun	Friables	aucune
T9	Blanc ou beige	Friables et noduleux	Nodules + embryoïdes
T10	Blanc ou beige	Friables et noduleux parfois vitrifiés	Nodules + embryoïdes
T11	Blanc, beige ou brun	Friables et/ou durs, noduleux	Nodules + embryoïdes
T12	Blanc	Friables et noduleux	Nodules + embryoïdes

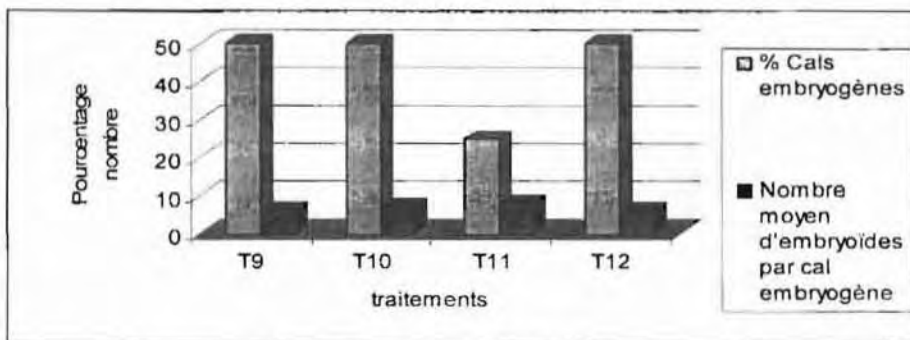
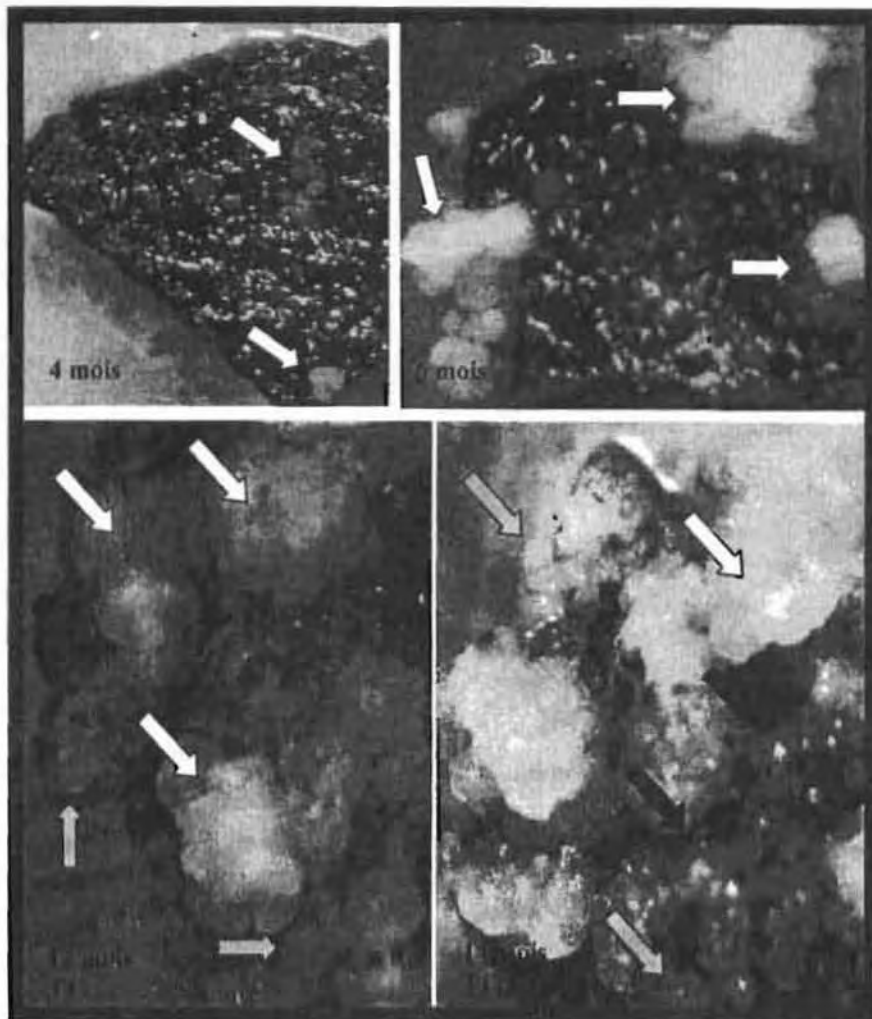


Figure 4 : Pourcentage des cals embryogènes, nombre moyen d'embryons somatiques par cal issus des milieux T9 à T12.



⇒ Cals ⇒ Nodules → Embryoïdes

Planche 1 : Evolution de la callogenèse dans le temps et types de cals obtenus.
Flèches : indiquant les différentes structures morphogénétiques observées

CONCLUSION

Un taux de contamination de 12.93 % a été enregistré au début de la culture, ce qui rejoint les résultats de ZAID et TISSERAT (1983) qui ont obtenu un taux de 10% en utilisant la même méthode de désinfection. Cependant, dans notre cas, les contaminations ont persisté tout au long de la culture avec parfois des pourcentages très élevés. De nombreux auteurs ZAID et TISSERAT (1983) et AIT-CHITT (1989) soulignent à ce sujet que la désinfection chez le palmier dattier est difficile, et peut être la conséquence de germes endogènes. En plus des contaminations, le phénomène de brunissement des cals a causé une perte considérable notamment avec les traitements T5 à T8.

Par ailleurs, les explants cultivés sur les milieux T1 à T4 n'ont manifesté aucune réaction. Cela peut être expliqué par les faibles rapports auxine/cytokinines de ces milieux, plus particulièrement la faible concentration en auxine (2,4-D : 10 à 60 mg/l). Or de nombreux auteurs, préconisent d'utiliser un minimum de 80 mg/l de 2,4-D (ZAID et TISSERAT, 1983 ; SHARMA *et al.* 1984 ; DAGUIN et LETOUZE, 1989). Ceci va d'ailleurs dans le sens de nos résultats obtenus avec les milieux contenant 80 à 100 mg/l de 2,4-D qui ont manifesté une callogenèse.

La réactivité des tissus chez le palmier dattier dépend, en plus du milieu de culture, du type d'explant à savoir : explants de cœur de rejets, embryons excisés, inflorescences, état physiologique, âge et date de prélèvement du matériel végétal (AIT-CHITT, 1989 ; EL HADRAMI *et al.*, 1998). En outre des interactions peuvent exister entre tous ces facteurs et se répercutent directement sur la réactivité des tissus.

Le temps d'initiation des cals est d'environ trois mois. Ces résultats concordent aussi avec ceux obtenus par SAKA (1997). Après neuf mois de culture, le pourcentage de callogenèse a été généralement faible et le taux le plus élevé, soit 25 %, a été enregistré sur le milieu T12 (100 mg/l de 2,4-D + 2mg/l de KIN + 0.5 mg/l de BAP), pourcentage assez faible par rapport à ceux obtenus (92,5% de callogenèse) par les mêmes auteurs SAKA (1997).

De nombreux auteurs, (TISSERAT, 1979, ZAID et TISSERAT, 1983) considèrent que ce phénomène constitue un problème majeur en culture in vitro du palmier dattier. Il serait dû selon ces mêmes auteurs à l'accumulation dans le milieu de culture de divers produits libérés par l'explant dans le milieu de culture (notamment polyphénols). Ce phénomène peut être atténué de différentes façons telles que :

- Un traitement des explants par des solutions antioxydantes (acide citrique, acide ascorbique,...) avant leur désinfection et leur ensemencement.
- Utilisation d'adsorbants dans le milieu de culture tel que le charbon actif ou le PVP.

En effet, REYNOLDS et MURASHIGE (1979), sont parvenus à réduire le brunissement en utilisant 3 g/l de charbon actif. Nos résultats obtenus sur les milieux T6 à T12 (avec charbon actif) concordent avec ceux de ces mêmes auteurs qui associent la concentration de 3 g/l de charbon actif à une concentration élevée de 2,4-D soit 100 mg/l.

Après neuf mois de culture, parmi les huit milieux réactifs, les deux milieux T8 et T10 donnent les meilleures surfaces moyennes des cals avec respectivement 115 et 139.5 mm². L'intensité de la callogenèse varie en fonction de la balance hormonale. Dans notre cas, aucune callogenèse n'a été obtenue avec les concentrations de 2,4-D inférieures à 80 mg/l. Ces résultats rejoignent ceux de TISSERAT (1979) et SAKA et ABED (1989) qui ont obtenu les meilleurs résultats avec le 2,4-D (100 mg/l) associé à une concentration de 3 mg/l de la 2ip.

Parmi les deux types cals obtenus, les cals friables croissent plus rapidement que les cals durs. En effet, d'autres auteurs comme DUCREUX et ROSSIGNOL (1986) estiment qu'un cal friable a une croissance plus rapide qu'un cal dur.

Le type et la couleur des cals dépendent de la balance hormonale utilisée. En effet, tous les milieux contenant une concentration de 80 à 100mg/l de 2,4-D et 1.5 à 2.5 mg/l de KIN+BAP ont produit des cals blancs, friables et noduleux. Ces résultats concordent également avec ceux de SAKA et ABED (1989).

L'émergence des premiers embryoides sur les cals blancs et friables a été observée après onze mois et demi de culture. Celle-ci n'a eu lieu qu'après le transfert des cultures sur un milieu frais dépourvu de toute hormone conformément aux recommandations de ZAID et TISSERAT (1983).

Le nombre et le stade de développement de ces embryons sont variables d'un milieu à un autre. Ceux-ci ont été obtenus avec les cals issus des milieux T9, T10, T11 et T12 avec une moyenne de 7 embryoides par cal. DAIKH et DEMARLY (1987) ont obtenu une moyenne de 20 embryons par cal en utilisant une balance hormonale semblable.

Nous avons remarqué par ailleurs, que les plus milieux plus favorables à la callogenèse sont aussi les plus favorables à l'embryogenèse somatique (à l'exception du milieu T8). Ce phénomène pourrait constituer un indice pour la sélection précoce de cals embryogènes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AIT-CHITT M., 1989.-** Multiplication in vitro du palmier dattier par organogénèse (embranchement axillaire) : problèmes rencontrés. In : Compte rendu du deuxième séminaire maghrébin sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques in vitro. FAO/ PNUD/ RAB/ 08/ 024. INRA, Marrakech, 9-12 October 1989. 141p.
- BOUGUEDOURA N., 1991.-** Connaissance de la morphogénèse du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L). Etude in situ et in vitro du développement morphogénétique des appareils végétatifs et reproducteurs. Thèse de doctorat. U.S.T.H.B., ALGER,
- CHEIKH R., ZAID A. et AIT-CHITT, M. 1989.-** Travaux de recherche conduits en embryogénèse somatique chez le palmier dattier. In: C.R. du deuxième séminaire maghrébin sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques in vitro. FAO/ PNUD/ RAB/ 08/ 024. INRA, Marrakech, 9-12 Octobre 1989. pp.59-69.
- DAGUIN F. et LETOUZE, R.1989.-** L'embryogénèse somatique : des possibilités nouvelles pour la micropropagation du palmier dattier. In: C.R. du deuxième séminaire maghrébin sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques in vitro. FAO/ PNUD/ RAB/ 08/ 024. INRA, Marrakech, 9-12 Octobre 1989. pp:51-58.
- DAIKH H. et DEMARLY Y., 1987.-** Résultats préliminaires sur l'obtention d'embryons somatiques et la réalisation de semences artificielles de palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. Fruits. Vol.42, n°10. p583.
- DJERBI M., 1988.-** Les maladies du palmier dattier. Projet régional de lutte contre le Bayoud, Alger, F.A.O., 127p.
- DUCREUX G. et ROSSIGNOL M. 1986.-** La pomme de terre. La recherche. 174. pp : 193-203
- EL HADRAMI I., EL BELLAJ M., EL IDRISI 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.
- LOUVET T.J. et TOUTAIN G., 1973.-** Recherches sur les Fusarioses. VIII. Nouvelles observations sur la fusariose du palmier dattier et précisions concernant la lutte. Ann. Phytopathologie. n°5. pp : 35-52.

- MESSAR E.M., 1996.-** Le secteur phoenicole Algérien : Situation et perspectives à l'horizon 2010. Options Méditerranéennes A 28, pp : 23-44.
- MESSIAEM G.M., 1981.-** Les variétés résistantes: méthodes de lutte contre les maladies et ennemis des plantes. INRA (France). 374 p.
- Ministère de l'agriculture, 1994.-** Statistique agricole. Ministère de l'agriculture. Série A. 1994
- MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962.-** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture .Physiol. Plant, 15. pp: 473-497.
- REUVENI 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.
- RHISS A., POULAIN L. et BEAUCHESNE G. 1979.-** La culture in vitro appliquée à la multiplication végétative du palmier dattier. Thèse Doctorat, Université de Dijon.140p.
- SAKA H. et ABED F., 1989.-** La multiplication in vitro du palmier dattier par embryogenèse somatique. In : C.R. du deuxième séminaire maghrébin sur la multiplication rapide du palmier dattier par les techniques in vitro. FAO/ PNUD/ RAB/ 08/ 024. INRA, Marrakech, 9-12 Octobre 1989, pp : 71-73.
- SAKA H., 1997.-** La régénération in vitro de différents cultivars de palmier dattier par embryogenèse somatique à partir d'organes de rejets. 4ème journée scientifique de l'URBFA. P. 22.
- SHARMA D.R., KUMAR R. et CHOWDHURY J.B., 1980.-** In vitro culture of female date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues. Euphytica, 29. pp :169-174.
- TISSERAT B., 1979.-** Propagation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in vitro. J. Exp. Bot. 30 , pp : 1275-1275.
- ZAID A. et TISSERAT B., 1983.-** Morphogenetic responses obtained from variety of somatic explant tissues of Date palms. Bot. Mag. 96, pp : 67.73.
- ZAID A., 2002.-** Production de plants de palmier dattier par embryogenèse somatique aux Emirats Arabes Unis, Workshop sur le palmier dattier Marrakech, FAO/ PNUD/ RAB/98/G31, Maroc du 12 au 15/12/2002. CD.