



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et des Organismes

Mémoire de fin d'Etudes

Pour l'obtention du Diplôme Master2
en

Génomique et Biotechnologies Végétales
Sujet :

**L'effet de l'irradiation au Cobalt 60 à la dose 15 Gy
sur la régénération des cals embryogènes de palmier
dattier (*Phoenix dactylifera*)**

Présenté par :

M^{elle} ABADI Souhila
M^{lle} CHEKALAINÉ Rabéa

Soutenu le : 20 septembre 2015

Devant le jury composé de :

M ^r MAHTOUKI.	MAB/BPO	Président
M ^{me} AYADI R.	MCB/PBO	Examinatrice
M ^{me} ABED F.	CR/INRAA	Promotrice

Promotion: 2014/2015

Remerciements

Avant tous, nous tenons à remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté d'accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice M^{me} ABED F. pour nous avoir consacré le temps nécessaire à la réalisation de ce travail ainsi pour sa gentillesse, ses encouragements et ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier également :

*Mr MAHTOUKI qui nous a fait le plaisir de présider ce jury, qu'il
Trouve ici notre profond respect.*

M^{me} AYADI R, pour ses encouragements et ses conseils, ainsi pour sa simplicité et sa sympathie et surtout d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous remercions toute l'équipe du plateau technique de la division Biotechnologies et amélioration des plantes qui nous ont accueillie chaleureusement surtout M^{me} DJAMALI L. Ainsi que Mr Bachiri A. et Boufis N. de la Division pour ses encouragements ainsi pour sa compréhension dont il nous a fait preuve tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions également toute personne ayant aidé de loin ou de près afin de réaliser ce travail surtout M^{elle} BADAOUI K, et MEFTAH A. qui nous ont apporté soutien et affection.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes chers parents qui ont été toujours présents quand il le faut.

A mes frères et ma sœur.

A toute ma famille.

A tous mes amis.

La liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

⁶⁰C : Cobalt 60

D.O : Densité optique

Fe: Fer

FeSO₄ 7H₂O: Sulfate heptahydrate

Gy: gray

H⁺: Ion Hydrogène

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

KH₂PO₄ : Phosphate de potassium ou monopotassique

MS : Murashige et Skoog

NH₄NO₃ : Nitrate d'ammonium

NaH₂PO₄ : Dihydrogénophosphate de sodium

Na, EDTA : Ethylène diamine tétra acétate de sodium

OH⁻ : Ion hydroxyde

tr/min : Tour par minute

La liste des figures

Figure n° 01 : Morphologie bilingue du palmier dattier.....	06
Figure n° 02 : Schéma d'une palme.....	06
Figure n° 03 : Inflorescence du Palmier Dattier.....	07
Figure n° 04 : Spathe mâle et spathe femelle.....	07
Figure n° 05 : Spathe femelle.....	07
Figure n° 06 : Spathe male.....	07
Figure n° 07 : Fleur femelle.....	08
Figure n° 08 : Fleur mâle.....	08
Figure n° 09 : Fruit et graine du palmier dattier.....	08
Figure n° 10 : Répartition géographique du palmier dattier dans le monde.....	10
Figure n° 11 : Pénétration du bayoud.....	15
Figure n° 12 : Répartition de la maladie du Bayoud dans les pays de l'Afrique du Nord.....	15
Figure n° 13 : Représentation schématique des lésions de l'ADN induites par des rayonnements ionisant.....	20
Figure n° 14 : Les types des cals utilisés pour les deux variétés.....	23
Figure n° 15 : Préparation de l'échantillon.....	28
Figure n° 16 : Extraction des protéines.....	29
Figure n° 17 : Représentation graphique du nombre de prolifération pour les variétés irradiées et témoins.....	31
Figure n° 18 : Représentation graphique de nombre de germination pour les variétés irradiées et témoins.....	32
Figure n° 19 : Photo de la germination.....	33
Figure n° 20 : Représentation graphique de nombre des plantules pour les variétés irradiées et Témoins.....	33
Figure n° 21 : Photo d'une plantule.....	34
Figure n° 22 : Représentation graphique de nombre de formation des racines seulement pour les variétés irradiées et témoins.....	34
Figure n° 23 : Photo d'une formation des racines.....	35
Figure n° 24 : Représentation graphique de nombre de mal formation pour les variétés	

irradiées et témoins.....	35
Figure n° 25 : Photo d'une mal formation et formation des racines.....	36
Figure n° 26 : Représentation graphique de nombre de nécrose pour les variétés irradiées et Témoins.....	36
Figure n° 27 : Courbe d'étalon des protéines.....	37
Figure n° 28 : Représentation graphique de la teneur en protéines solubles totales pour les variétés irradiées et témoins.....	39
Figure n° 29 : Stérilisation du matériel de culture dans l'étuve.....	42
Figure n° 30 : Stérilisation du matériel de culture dans L'autoclave.....	43
Figure n° 31 : (a) Les pinces, spatules et bistouri utilisées pour le repiquage. (b)La hotte stérile à flux laminaire.....	45
Figure n° 32 : Chambre de culture.....	45

La liste des tableaux

Tableau n^o 01 : Production mondiale de dattes.....	10
Tableau n^o 02 : Les composants du milieu de germination du GMN200.....	25
Tableau n^o 03 : Dilutions de la courbe d'étalonnage.....	27
Tableau n^o 04 : Densité optique (D.O.) de chaque dilution.....	37
Tableau n^o 05 : Teneur en protéines pour la variété Tegaza irradiée et témoin.....	38
Tableau n^o 06 : Teneur des protéines pour la variété Deglet nour irradiée et témoin.....	38
Tableau n^o 07 : les macroéléments selon MURASHIGE et SKOOG 1962.....	47
Tableau n^o 08 : les micro-éléments selon MURASHIGE et SKOOG 1962.....	47
Tableau n^o 09 : Fer MS.....	47
Tableau n^o 10 : la moyenne et écart type de la prolifération pour les variétés irradiées et témoins.....	47
Tableau n^o 11 : Analyse de la variance pour la prolifération.....	48
Tableau n^o 12 : la moyenne et écart type de la germination pour les variétés irradiées et témoins	48
Tableau n^o 13 : Analyse de la variance germination.....	48
Tableau n^o 14 : la moyenne et écart type de plantule pour les variétés irradiées et témoins....	49
Tableau n^o 15 : la moyenne et écart type de la formation des racines pour les variétés irradiées et témoins.....	49
Tableau n^o 16 : la moyenne et écart type des malformations pour les variétés irradiées et témoins.....	50
Tableau n^o 17 : Analyse de la variance pour les malformations.....	50
Tableau n^o 18 : la moyenne et écart type des nécroses pour les variétés irradiées et témoins.....	51

Résumé

Afin de développer le processus de régénération par la technique de l'embryogenèse somatique pour l'intégrer dans les programmes d'amélioration et de conservation de palmier dattier. Une étude comparative a été réalisée sur les capacités de régénération de cals embryogènes irradiés et non irradiés de deux cultivars sensibles au bayoud (Tegaza et Deglet noir). Les cals ont été irradiés au cobalt (^{60}C) à une dose de 15 Gy.

Cette étude a montré une différence significative entre les cals irradiés et non irradiés, et a montré une prolifération plus importante des cals témoins par rapport aux cals irradiés des deux variétés. Des malformations et des formations de racines ont été observées chez les cals irradiés contrairement aux non irradiés. Le dosage la teneur en protéines solubles totales a montré qu'il y a des différences entre les deux variétés et leurs irradiés, et que la synthèse protéique est bien active mais la teneur diffère entre les cals analysés. Ceci a été observé beaucoup plus sur les cals compacts que les cals friables.

Mot clés : Palmier dattier, Bayoud, embryogenèse somatique cal embryogène irradié. , régénération, protéine soluble.

Abstract

In order to develop the regeneration process by the technique of somatic embryogenesis for integration into breeding programs and conservation of date palm. A comparative study was conducted on callus regeneration capacities embryogenic irradiated and non-irradiated of two susceptible cultivars to bayoud (Deglet Nour and Tegaza). Calli were irradiated cobalt (60C) at a dose of 15 Gy.

This study showed a significant difference between the irradiated and non-irradiated calli, and showed greater proliferation control calli compared to irradiated calli of both varieties. Abnormals and roots formation were observed in irradiated calli comparing to non-irradiated calli. Dosing the total soluble protein content showed that there are differences between the two varieties and irradiated, and protein synthesis is very active, but the content differs between the analyzed calli. This was observed much more in compact callus than the callus brittle

Key words: Date palm, bayoud, somatic embryogenesis, irradiated callus, regeneration, protein soluble.

ملخص

من اجل تطوير عملية التجديد عن طريق تقنية تطور الجنيني الجسدي للاندماج في برامج التنوع والمحافظة على نخيل التمر. تم اجراء دراسة مقارنة عن قدرات تجديد تخليقي الكالس المشع وغير المشع لصنفين عرضة للبيوض دقلة نور وتقازا. تم اشعاع الكالس عن طريق الكوبالت 60 بجرعة 15. وأظهرت هذه الدراسة فرقا كبيرا بين الكالس المشع وغير المشع، تكاثر الكالس غير مشع أكبر بكثير بالنسبة لكالس المشع للصنفين الاخرين. وقد لوحظت التشوهات والتكوينات الجذرية في النسيج المشع على عكس غير المشع. الجرعات لمحتوى البروتين الكلي للذوبان أظهرت أن هناك اختلافات بين الأصناف الغير المشعة والمشعة، واطهرت أيضا ان عملية تركيب البروتينات تعتبر نشطة جدا، ولكن النسبة تختلف بين الكالس المحلل. وقد لوحظ ذلك أكثر بكثير الكالس المضغوط على الكالس هش.

الكلمات المفتاحية، النخيل، البيوض، تطور الجنيني الجسدي، الكالس المشع، تجديد، البروتين الكلي للذوبان.

Table des matières

La liste des abréviations	
La liste des figures	
La liste des tableaux	
Résumé	
Abstract	
Résumé en arabe	
Introduction.....	2

Chapitre I- Etude bibliographique

I. Description du palmier dattier.....	3
I.1.Systématique	3
I.2.Botanique.....	3
I.2.1Appareil végétatif.....	3
I.2.1.1Système racinaire.....	3
I.2.1.2Tronc (stipe).....	3
I.2.1.3.Palmes.....	4
I.2.2.Appareil reproducteur.....	4
I.2.2.1 Inflorescences.....	4
I.2.2.2.Pollinisation.....	4
I.2.2.3.Fruit.....	4
I.3Mode de propagation du palmier dattier.....	5
I.3.1.Multiplication par graine.....	5
I.3.2 Multiplication par voie végétative.....	5
I.4.Ressources génétiques.....	5
II. Répartition géographique et importance économique.....	9
II.1.Répartition dans le monde.....	9
II.2.Répartition en Algérie.....	9
II.3.Production dans le monde.....	9
II.4.Production en Algérie.....	9

III. Multiplication <i>in vitro</i> du palmier dattier.....	10
III.1.Organogénèse.....	10
III.1.1.Matériel végétal utilisé.....	11
III.1.2.Initiation des bourgeons.....	11
III.1.3.Multiplication des bourgeons.....	11
III.1.4.Elongation et enracinement des bourgeons.....	12
III.1.5.Acclimatation des plantules.....	12
III.2.Embryogénèse somatique.....	12
III.2.1.Préparation du matériel végétal.....	12
III.2.2.Initiation du cal.....	13
III.2.3.Multiplication du cal.....	13
III.2.4.Maturation et germination des embryons somatiques.....	13
III.2.5.Acclimatation des plantules.....	14
IV. Maladie du palmier dattier « le bayoud ».....	14
IV.1.Description et symptômes du bayoud.....	14
IV.2.Mode de pénétration du champignon.....	15
IV.3 Les moyens de lutte.....	16
IV.3.1 Mesures prophylactiques.....	16
IV.3.2.Lutte chimique.....	16
IV.3.3.Lutte génétique.....	16
V. Radiomutagenèse.....	17
V.1.Induction de mutations.....	17
V.2.Agents mutagènes.....	17
V.2.1.Agents chimiques.....	17
V.2.2.Agents physiques.....	18
V.3.Mécanismes d'action des radiations ionisantes.....	18
V.4.Intérêt pratique des mutations provoquées par les radiations, dans l'amélioration des plantes cultivées.....	20

CHAPITRE II - Etude expérimentale

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal.....	22
2. Méthodes.....	24
2.1. Technique de stérilisation.....	24
2.1.1. Stérilisation du matériel de laboratoire.....	24
2.1.2. Stérilisation du milieu de culture.....	24
2-1-3 Les conditions de la culture	24
2.2 Méthode de préparation du GMN200.....	24
2.3. Repiquage.....	25
2.4. Méthode d'irradiation des cals embryogènes.....	26
2.5. Dosage des protéines solubles totales.....	26
2.5.1. Préparation du tampon d'extraction.....	26
2.5.2 Extraction des protéines.....	26
2.5.3 Principe du dosage	27
2.5.4 Gamme d'étalon.....	30
3- Méthodes d'analyses statistiques.....	30
3-1 Description des données.....	30
3-2 Analyse de la variance (ANOVA).....	30

Chapitre III - Résultats et discussion

1-Effet de l'irradiation sur les cultures des cals embryogènes irradiés.....	31
1-1 Prolifération.....	31
1-2 Germination des embryons somatiques.....	32
1-3 Régénération.....	33
1-3-1 Régénération de plantule.....	33
1-3-2 Régénération en racines.....	34
1-3-3 Mal formation obtenues.....	35
2-Expression physiologique des cals irradiés.....	36
2-1 Nécroses obtenues sur les cals embryogènes irradiés.....	36
2-2 Teneur en protéines solubles totales des cals.....	37

2-2-1 Teneur en protéines chez la variété Tegaza.....	38
2-2-2 Teneur en protéines chez la variété Deglet Nour.....	38
2-2-3 Comparaison de la teneur en protéine chez les deux variétés.....	39
Conclusion	40
Annexes	42
Références bibliographiques	49

Introduction

Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une monocotylédone pérenne de la famille des Arécacées. (ZAID, 2003). Il est cultivé principalement dans les zones arides ou désertiques de l'Afrique du Nord et du Moyen Orient. En Algérie, précisément au Sahara, le palmier dattier représente l'arbre fruitier par excellence, puisqu'il a constitué et constitue toujours la base alimentaire des populations de cette région (HODEL et JOHNSON, 2007).

Durant les dernières années, la production des dattes a connu une diminution notable due surtout à la maladie de Bayoud causée par un champignon tellurique *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. (FERNANDEZ et al, 1995). Depuis l'apparition de cette maladie (MALENÇON, 1934 ; LOUVET et al, 1970) dans les palmeraies de Figuig au Maroc et Béni Ouenif (Béchar) en Algérie, plus de 15 Millions de palmiers dattiers ont été détruits dans ces 02 pays (DJERBI, 1982). C'est un véritable fléau des zones phoenicicoles de l'Afrique du Nord et une menace qui pèse sur cette richesse naturelle et notamment la variété « *Deglet Nour* » très prisée dans les pays Européens.

En Algérie, plus de 3 millions d'arbres ont été détruits à cause de la maladie de Bayoud, particulièrement dans les régions de Tidikelt, de Touat et de M'Zab (BROCHARD et DUBOST, 1970 ; DUBOST, 1972).

Le caractère dioïque du palmier dattier a eu pour conséquence une grande variabilité lorsqu'il est multiplié par semis. La diversité génétique du palmier dattier a permis la sélection d'un grand nombre de clones ayant des caractéristiques morphologiques et physiologiques différentes, ce qui a permis aux palmeraies algériennes de résister au bayoud (HANNACHI et al, 1998).

A cet effet, un grand nombre de méthodes apte à l'exploration de la diversité génétique chez les plantes supérieures a été rapporté (CHARCOSSET et MOREAU, 2004, HENDERSON, 2006). Parmi ces méthodes, celles qui sont basées sur l'utilisation des produits chimiques (la lutte chimique) ou l'utilisation des organismes vivants (la lutte biologique), mais elles restent coûteuses et risquent d'engendrer des problèmes d'environnement et de la santé humaine et animale. La lutte génétique reste le moyen de lutte le moins polluant (SAKA et al, 1997 EL HADRAMI et al, 2005).

L'amélioration génétique est l'outil le plus efficace pour produire un matériel végétal résistant avec une bonne qualité dattière. Cependant, cette voie nécessite un temps long (15 à 30 ans) pour la production d'une nouvelle variété. C'est pourquoi la culture *in vitro* se présente comme une alternative pour assurer la multiplication de génotype d'élite et entre voir l'amélioration de l'espèce.

L'embryogenèse somatique offre des potentialités et des applications énormes : rapidité, facilité, taux de multiplication très élevé comparativement aux autres techniques de propagation *in vitro*. C'est une méthode d'obtention rapide et en grand nombre de plants de palmier dattier.

Elle ouvre aussi des perspectives pour l'amélioration de l'espèce dans la lutte contre le bayoud, (hybrides somatiques, mutagenèse, transformation génétique) (ABED *et al*, 2014). Dans ce cadre des projets de recherche avec l'AIEA ont été mis en œuvre dans la lutte contre le bayoud en utilisant les techniques de radiomutagenèse.

C'est dans ce cadre et dans la perspective d'améliorer l'espèce, que notre étude a pour objectif de développer le processus de régénération par la technique de l'embryogenèse somatique pour l'intégrer dans les programmes d'amélioration. Cette étude vise à faire une étude comparative sur les capacités de régénération de cals embryogènes irradiés au cobalt (^{60}C) à une dose de 15 Gy et les cals embryogènes non irradiés de deux cultivars sensibles au bayoud (Tegaza et Deglat noir). L'expression physiologique des cals sera étudiée par le dosage de la teneur en protéine solubles totales

*Chapitre I : Etude
bibliographique*

I. Description du palmier dattier

I.1. systématique

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* par Linné en 1734. Le terme Phoenix dérive de Phoenix, nom du dattier chez les grecs et dactylifera vient du latin dactylus dérivant du mot grec dactylos, signifiant doigt, à cause de la forme du fruit (**MUNIER, 1973**).

Le palmier dattier est classé par APGIII en 2009 comme suit :

- Domaine : Eucaryotes
- Règne : Plantae
- Clade : Angiospermes
- Clade : Monocotylédones
- Clade : Commelinidées
- Ordre : Arecales
- Famille : Arecaceae
- Sous famille : Coryphoideae
- Tribu : Phenoceae
- Genre : Phoenix
- Espèce : *Phoenixdactylifera*L

I.2. Botanique

I.2.1. Appareil végétatif :

I.2.1.1 Système racinaire

La partie souterraine du palmier dattier est formée d'un bulbe ou plateau racinaire, disposée en faisceaux de racines (racines fasciculées), peu ramifiées et avec un peu de radicelles. Ce système est caractérisée par quatre zones d'enracinement ; la zone I (racines respiratoire) qui se trouve dans la région basale du tronc du pied du dattier. Leurs profondeurs ne dépassent pas 0.20 à 0.25 m ; zone II (racines de nutrition) qui constitue la plus forte proportion de racines du système allant de 20 à 100 cm ; Zone III (racines d'absorption) leur le mode de culture est plus en mois important au niveau phréatique (profondeur 1 à 2 mètres) ; zone IV (les racines d'absorption en profondeur), c'est là où se fait l'absorption en profondeur par un phénomène de géotropisme positif (**MUNIER, 1973 ; PEYRON, 2000**).

I.2.1.2 Le tronc (stipe)

Le tronc ou autrement dit le stipe est de forme cylindrique comporte des multitudes faisceaux libéro-ligneux et un seul bourgeon apicale « phyllophore ou apex », d'où la fonction de l'apex est d'assurer une croissance verticale du palmier (**ZAÏD, 2002**). Durant la vie du

palmier, on peut avoir des pseudo-ramifications due au développement des gourmands ou des rejets. Le stipe peut atteindre 20 m de long ou plus (MUNIER, 1973).

I.2.1.3 Les palmes

Le pétiole issu de l'élargissement du rachis est l'élément de liaison avec le tronc ainsi que les palmes qui sont des feuilles composées, pennées. Ces dernières se disposent autour du tronc sous une forme d'hélice. D'où les segments inférieurs sont transformés en épines, plus ou moins nombreuses, plus ou moins longues (figure 2) (MUNIER, 1973).

I.3. Appareil reproducteur

I.3.1. Les inflorescences

Le palmier est une espèce dioïque, le pied mâle (dokkars) est séparé du pied femelle (nakhla). Ce dernier c'est lui qui donne le fruit. L'inflorescence issue de la germination de bourgeons axillaires, est une grappe d'épis, enveloppée et protégée par une grande bractée membraneuse close de forme allongée, dite « spathe » (Figure 4 et 5) (PEYRON, 2000).

La distinction entre les pieds mâles et femelles avant épanouissement se réfère à la différence entre les spathes. Chez le mâle, elles sont plus courtes et renflées par rapport à celle des femelles (MUNIER, 1973).

Fleur femelle : Elle est de forme globulaire, d'un diamètre de 3 à 4 mm (MUNIER, 1973) (figure 7). Elle possède un ovaire avec trois carpelles séparés, dans lesquelles on trouve trois ovules : un seul ovule est fertile qui sera par la suite un fruit et les deux autres disparaissent (PEYRON, 2000).

Fleur mâle : Elle est de forme légèrement allongée (MUNIER, 1973) (figure 8). Chaque fleur contient six étamines. Lors de la maturation celle-ci s'ouvrent et libèrent des grains de pollen (PEYRON, 2000).

I.3.2. Pollinisation

Le dattier est une plante dioïque, anémophile. La pollinisation aura lieu selon deux manières, naturelle par l'action éolienne ou par l'action de l'homme lors de l'ouverture des spathes (MUNIER, 1973).

I.3.3. Fruit

Le fruit du palmier est une baie qui contient à son tour une graine ou autrement dit le noyau c'est le fruit de dattier. Cet embryon dorsale (figure 9) est de forme allongée, plus ou moins volumineux, lisse, sa consistance est dure et cornée (MUNIER, 1973).

I.4. Mode de propagation du palmier dattier

I.4.1 La multiplication par graine

Le dattier est une espèce dioïque, hétérozygote leur multiplication produit des descendants non conformes au pied mère ; d'où une graine donne 50% de chance d'avoir les deux sexes. Cette méthode de production est une technique consommatrice du temps, elle ne permet d'obtenir des pieds productifs qu'au bout d'une dizaine d'années.

I.4.2 La multiplication par voie végétative

C'est le mode de propagation qui permet de conserver les caractéristiques du pied mère et de ses fruits. Les meilleurs rejets sont prélevés à la base du tronc ou voisinage du sol, leurs poids sera de 15 à 20 Kg (MUNIER, 1973).

I.5. Les ressources génétiques

Les variétés représentent les individus femelles qui produisent les fruits, Elles ne sont en réalité que des races ou métis (MUNIER, 1973), obtenues par le phoeniculteur par des sélections empirique, en multipliant végétativement des hybrides formant des (variétés population) ou (cultivar). On désigne par (cultivar) l'ensemble des dattiers aux caractéristiques phénotypiques homogènes portant localement le même nom ; C'est la première catégorie de ressources génétique du dattier. Une deuxième catégorie est représentée par les francs issus d'une multiplication sexuée (khalts) (PEYRON, 2000). Cette catégorie représente une richesse inépuisable. La notion de variété chez le palmier dattier peut être associée à la notion de clone, puisque tous les individus sont issus d'un même et unique individu de départ. Les palmiers males ont une grande importance dans la production phoenicicole (BEN ABDALLAH, 1990). Ils sont appelés sans distinction (dokkars).

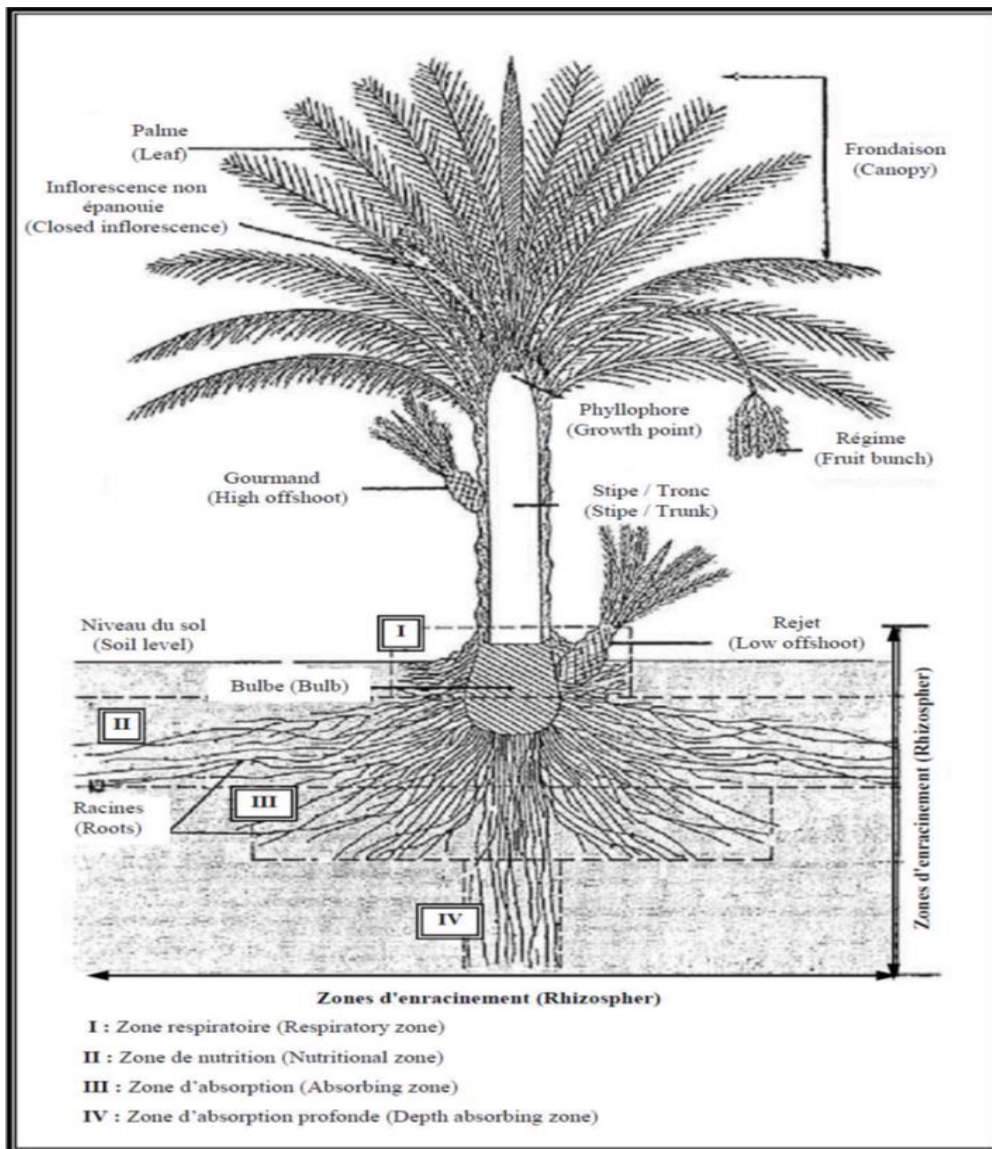


Figure n⁰¹ : Morphologie bilingue du palmier dattier sur schéma de MUNIER (1973)

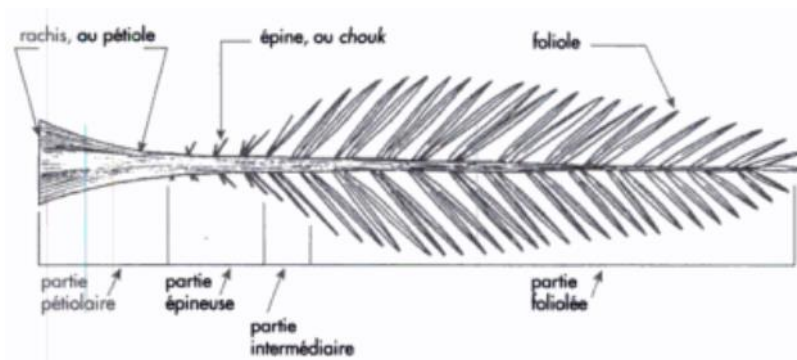


Figure n⁰² : Schéma d'une palme (PEYRON, 2000).

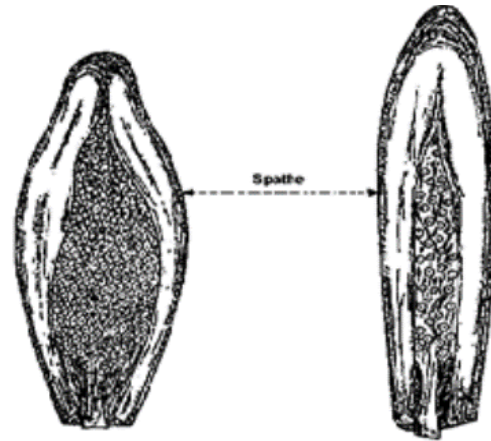
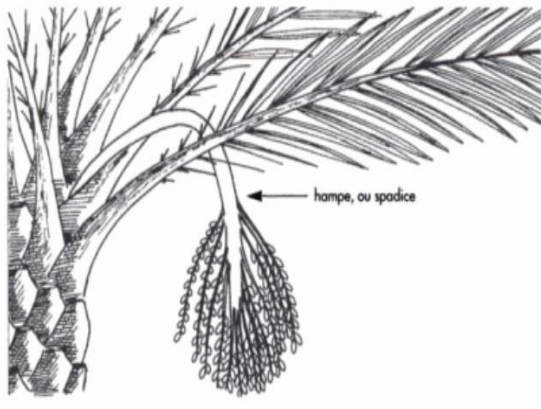


Figure n⁰³ : Une inflorescence du Palmier Dattier (PEYRON, 2000). **Figure n⁰⁴** : Spathe mâle et spathe femelle (PEYRON, 2000).



Figure n⁰⁵: Spathe femelle (ZAÏD, 2002). **Figure n⁰⁶**: Spathe male (ZAÏD, 2002).

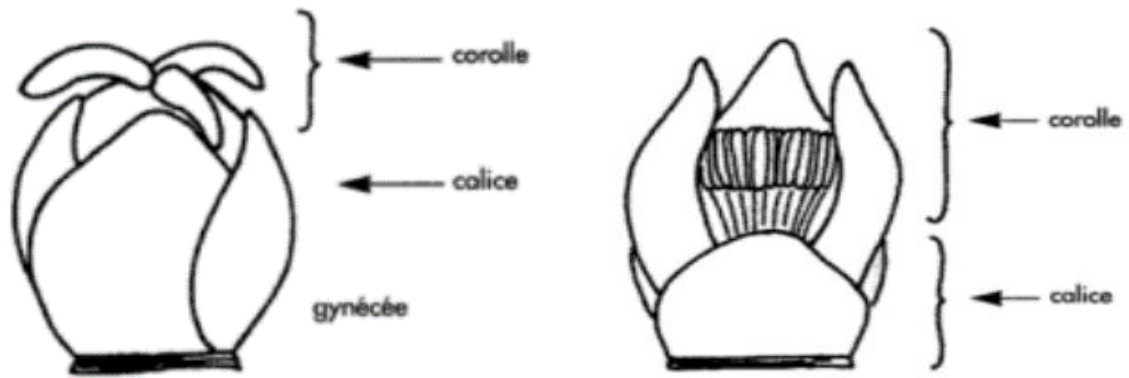


Figure n°7 : Une fleur femelle (PEYRON, 2000). Figure n°8 : Une fleur mâle (PEYRON, 2000).

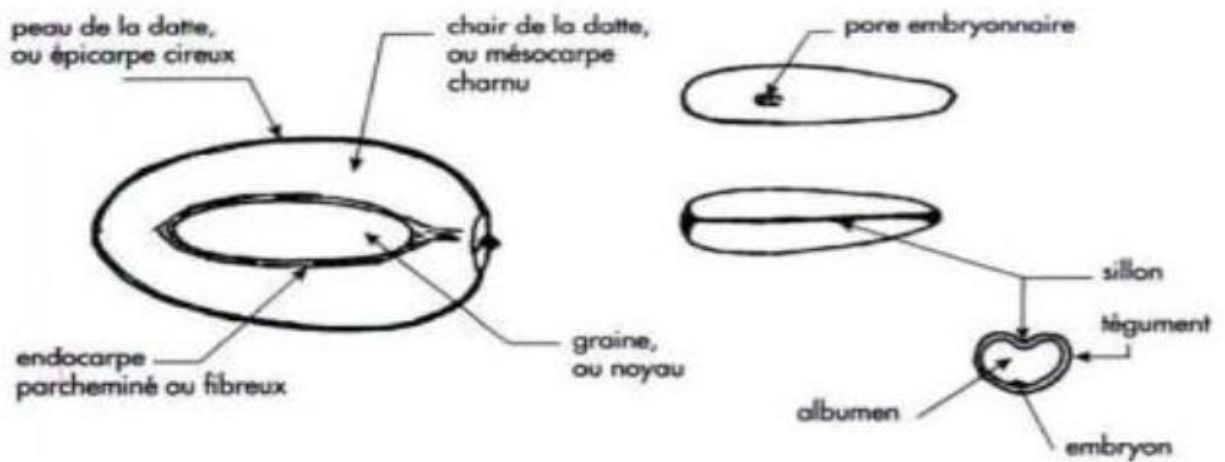


Figure n°9 : Fruit et graine du palmier dattier (PEYRON, 2000).

II. Répartition géographique et Importance économique

II.1 Répartition dans le monde

Le palmier dattier est cultivé dans les régions arides et semi arides chaudes situées entre l'Euphrate et le Nil, entre les altitudes 35° Nord et 15° Sud. Les échanges commerciaux entre les différentes régions du monde ont aidé à sa propagation. Les plus importantes palmeraies se trouvent cependant en Afrique du nord et au moyen orient. L'Espagne reste le seul pays d'Europe à produire des dattes principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche, située à l'Ouest d'Alicante à 39° Nord. Le palmier dattier est également cultivé à plus faible échelle au Mexique, en Argentine et en Australie. Aux Etats-Unis d'Amérique, le palmier dattier fut introduit au XVIIIème siècle mais sa culture n'a débuté réellement que vers les années 1900 avec l'importation des variétés algériennes, en particulier *DegletNour*, et des variétés Irakiennes (figure 10) (**HILGEMANN, 1972, in ABED, 2012**).

II.2 Répartition en Algérie

La palmeraie algérienne est constituée de plus de 17 millions de palmiers (statistiques MADR 2009) répartis à travers 09 wilayas sahariennes : Biskra, El-Oued, Ouargla, Ghardaïa, Adrar, Béchar, Tamanrasset, Illizi et Tindouf. Le palmier dattier se trouve également dans d'autres wilayas situées dans des zones de transition entre la steppe et le Sahara que l'on considère par rapport aux palmeraies sahariennes, de « marginales » (**BUELGUEDJ, 2007**).

II.3 Production dans le monde

La production mondiale de dattes est d'environ 7 millions de tonnes par année. Elle s'est doublée depuis les années 1980. La datte est classée au 5^{ème} rang des fruits les plus produits dans les régions arides et semi- arides. D'après la F.A.O, la production mondiale de dattes est estimée à 7.62 millions de tonnes en 2010(tableau n°1) (**FAO, 2010**).

II.4 Production en Algérie

En Algérie, la superficie occupée par le palmier dattier couvre 103.129ha. Elle diffère d'une wilaya à une autre. La superficie la plus importante concerne les wilayas de Biskra et d'El-Oued atteignant toutes les deux 53.533ha soit 52%, soit plus de la moitié de la superficie totale par le palmier dattier. La production est estimée à 492.217 tonnes dont 244.636 tonnes (50 %) de dattes demi molles (*DegletNour*), 164.453 tonnes (33 %) des dattes sèches (*Degla Beida* et analogues) et 83.128 tonnes soit 17 % des dattes molles (*Ghars* et analogues) (**BUELGUEDJ, 2007**).



Figure n°10 : Répartition géographique du palmier dattier dans le monde (EL HADRAMI, 2011)

Tableau n°1 : Production mondiale de dattes (2007 à 2010) FAO, (2010)

Production de dattes en tonne (t)				
Années / Pays	2007	2008	2009	2010
Algérie	526921.00	600696.00	600696.00	710000.00
Egypte	1.313.700.00	1.326.130.00	1.270.480.00	1.352.950.00
Libye	150,000.00	150,000.00	160,101.00	161.000.0
Maroc	74,300.00	72,700.00	84,580.00	119.360.00
Soudan	336,000.00	339,300.00	422,000.00	431.000.00
Tunisie	124,000.00	145,000.00	162,000.00	145.000.00
Chine	130,000.00	135,000.00	140,000.00	147.000.00
Iran	1.307.880.00	1.023.130.00	1.023.130.00	1.023.130.00
Arabie Saoudite	982,546.00	986,409.00	991,660.00	1.078.300.00
E.A.U	757,600.00	757,600.00	759,000.00	775.000.00

III. La multiplication *in vitro* du palmier dattier

Cette technique est un moyen efficace et rapide. Elle est basée sur le principe de la totipotence cellulaire. Deux méthodes de micropropagation du palmier dattier sont connues.

III.1 L'organogenèse

La micropropagation du palmier dattier par la technique d'organogenèse s'adresse aux potentialités méristématiques préexistantes chez les explants mis en culture et qui permettent la néoformation directe de bourgeons (EL HADRAMI, 1993).

Elle consiste à induire la néoformation et le développement de bourgeons adventifs directement sur les tissus de l'explant mis en culture. Généralement, ces bourgeons prennent naissance à partir des cellules méristématiques pré-existantes au niveau de la face interne des jeunes feuilles du cœur de rejet, entourant le dôme apical. En ce qui concerne les inflorescences, leurs tissus présentent souvent une aptitude particulière à l'organogenèse et la réussite de leur multiplication *in vitro* est tributaire de la maîtrise des facteurs qui régissent la réversion de leurs potentialités organo-génétiques de l'état floral à l'état végétatif.

La production de vitroplants via cette technique nécessite le passage par les étapes suivantes :

III.1.1 Matériel végétal utilisé

En général, les milieux de culture et le matériel de travail sont stérilisés par autoclavage pendant 20 min à une température de 121 °C et sous une pression de 1,35 bar (SUJATHA et al, 1996 ; DEORE et al, 2008 ; KALIMUTHU et al, 2007 ; SARIKA et al, 2009 ; PURKAYASTHA et al, 2010). Le matériel végétal (les rejets et les inflorescences) est prélevé à partir de palmiers indemnes de toute maladie et authentifiés de point de vue caractéristique variétal. Après une phase de désinfection, le prélèvement et l'ensemencement des explants, constitués de tissus de cœur de rejets ou de fragments d'épillet, est effectué sous hotte à flux laminaire (ANJARNE et al, 2005).

III.1.2. Initiation des bourgeons

Quelle que soit la technique de micropropagation, le milieu de base généralement utilisé est le milieu de Murashige et Skoog (1962) [MS]. Le pH est ajusté à $5,7 \pm 0,1$ et le milieu est solidifié avec de l'agar à une concentration variable (de 0,70 % à 0,90 %) selon la qualité du produit commercialisé par les différents fournisseurs tels que S.D. Fine, Hi-media ou Merck (DATTA et al, 2007 ; SARIKA et al, 2009).

Les explants sont ensemencés sur un milieu d'initiation de bourgeons et incubés en obscurité sous une température voisine de 26°C. La formation des premiers bourgeons débute après 6 à 12 mois de mise en culture et demeure très variable en fonction des génotypes. Cette phase constitue l'étape la plus délicate en organogenèse. Son succès dépend de l'interaction de plusieurs facteurs, entre autre la période de prélèvement, l'état physiologique du matériel végétal introduit ainsi que la composition du milieu de culture (ANJARNE et al, 2005).

III.1.3. Multiplication des bourgeons

Les explants qui manifestent un début de bourgeonnement sont transférés sur un milieu favorable à la multiplication et l'installation des souches réactives. Chaque explant donne naissance à une souche constituée de 3 à 8 bourgeons. Le processus de multiplication

consiste en une dissociation de la souche mère en petits amas de quelques bourgeons toutes les 5 à 6 semaines, et leur repiquage sur des milieux frais. Le taux de multiplication est variable en fonction des génotypes et oscille entre 2 et 4. (ANJARNE et al, 2005).

III.1.4. Elongation et enracinement des bourgeons

Cette étape consiste en une séparation de bourgeons bien individualisés et leur transfert des milieux qui favorisant leur élongation. L'allongement est succédé par une étape d'enracinement de bourgeons. Au terme de cette étape, des plantules complètes sont obtenues et leur incubation sous une forte intensité lumineuse est nécessaire en vue de leur préparation pour la sortie en serre d'acclimatation. (ANJARNE et al, 2005).

III.1.5. Acclimatation des plantules

Les plantules répondant à certaines normes qualitatives (collet fermé et bien structuré, 2 à 3 feuilles, système racinaire ramifié) sont transférées en serre et repiquées sur un substrat bien drainant qui favorise le développement et l'émission de nouvelles racines. Pour assurer une humidité relative proche des conditions de *l'in vitro*, les plantules sont incubées sous un tunnel de confinement en plastique pendant les 2 premières semaines. Dans de telles conditions, un pourcentage de reprise allant de 70 à 90 % peut être obtenu en fonction des génotypes. Cette étape peut être accomplie en 6 à 8 mois. Avant la plantation au champ, une dernière phase de durcissement sous abri ombragé est conseillée afin de favoriser un bon développement des vitroplants avant leur plantation au champ (ANJARNE et al, 2005).

III.2. L'embryogenèse somatique

L'embryogenèse somatique est basée sur l'induction de la callogenèse à partir de tissus de jeunes feuilles du cœur de rejet, des bourgeons axillaires ou des jeunes inflorescences.

Le principe de cette technique consiste en une dédifférenciation des tissus mis en culture pour donner naissance à des structures cellulaires inorganisées et indifférenciées appelées cal. Ces structures peuvent être obtenues à partir de tissus renfermant des zones méristématiques. La différenciation d'embryons somatiques prend naissance à partir des cals embryogènes et des plantules complètes sont régénérées à la suite de la germination de ces embryons (EL HADRAMI, 1993).

III.2.1. Préparation du matériel végétal

La préparation du matériel végétal se fait de la même façon que la méthode utilisée pour la technique d'organogenèse. (ANJARNE et al, 2005).

III.2.2. Initiation du cal

La culture d'embryons somatiques peut se réaliser dans un milieu gélosé. Ce dernier possède l'avantage de bien voir les embryons.

Le milieu de base utilisé est généralement le milieu de Murashige et Skoog (1962) [MS]. Le pH est ajusté à $5,7 \pm 0,1$ et le milieu est solidifié avec de l'agar à une concentration variable (de 0,70 % à 0,90 %) selon la qualité du produit commercialisé par les différents fournisseurs tels que S.D. Fine, Hi-media ou Merck (**DATTA et al, 2007 ; SARIKA et al, 2009**). Il est caractérisé par sa composition en éléments minéraux nécessaires aux différentes activités du métabolisme cellulaire (**KIRKBY et MENGEL., 1979**)

Cette étape correspond à la phase de formation sur l'explant initial d'un cal non structuré et indifférencié sur un milieu approprié, riche en auxine et dont la croissance peut être maintenue grâce à des repiquages successifs. Cette étape appelée aussi l'initiation de la proembryogenèse car elle est obtenue par différenciation de cellules de type embryogène. La formation du cal débute à partir du 3^{ème} mois de mise en culture et peut varier en fonction des génotypes introduits (**ABED, 2012**)

III.2.3 Multiplication du cal

Les cals initiés sont transférés sur des milieux de culture susceptibles d'assurer leur multiplication. La durée d'exploitation des cals durant cette phase de multiplication doit être limitée dans le temps de façon à réduire les risques d'apparition des variations somaclonales chez les plants régénérés. (**ANJARNE et al, 2005**).

III.2.4. Maturation et germination des embryons somatiques

Les nodules embryonnaires formés à partir des cals embryogènes se différencient progressivement en embryons somatiques. La germination de ces embryons se fait généralement sur des milieux dépourvus de régulateurs de croissance (**YATTA, 2007**). Lorsque les cals sont transférées dans un milieu appauvri en auxines, le développement de proembryons est observé (**ABED, 2012**).

Les embryons passent par différents stades d'évolution avant de donner naissance à des plantules complètes (**FKI, 2005**).

La composition des milieux de culture est importante pour le développement des embryons et varie pour chaque espèce étudiée (**ABED 2012**). Généralement différentes sources d'azote (ammonium, nitrates, acides aminés et les hydrolisats de caséine) (**TRIGIANO et CONGER, 1987**). Le carbone est apporté le plus souvent par le saccharose. L'addition des cytokinines dans le milieu provoque la mise en place du méristème

caulinaire chez plusieurs espèces comme le bananier (DHED'A et al, 1991) ; l'hévéa (MONTORO et al, 1992) ; ou le palmier à l'huile (ABERLENC-BERTOSSI et al, 1999).

En ce qui concerne les marques protéiques et moléculaires de la morphogénèse des embryons, les travaux de CORDEWENER et al en 1993 sur la carotte ont montré que la glycosylation des protéines extracellulaires apparaît comme une étape importante dans la maturation des embryons (ABED, 2012).

III.2.5. Acclimatation des plantules

L'acclimatation des plantules se fait dans les mêmes conditions précédemment décrites pour la technique d'organogénèse (ANJARNE et al, 2005).

L'embryogénèse somatique a été décrite chez le blé (BUSTAMANTE., 1999 ; BAOCHUN et al, 2003) l'orge (ZDENKOREGEL., 1987) le maïs (NOVAK et al, 1983) le riz (RUEB et al, 1993) et avec lesquels des embryoïdes ou des embryons somatiques ont été observés et aussi chez d'autres espèces telle que la patate douce, carotte, céleri, luzerne et la vigne (SIHACHAKR et al, 1994).

IV. Maladie du palmier dattier « le bayoud »

Le palmier dattier peut être menacé par diverses pathologies dues à des ravageurs ou à des parasites. On peut citer comme exemple : La maladie du «Boufaroua», due à un acarien, *Oligonychus safrasiticus* ; La maladie du «Djereb», due à la cochenille blanche, *Parlatoria blanchardi*. La pourriture de l'inflorescence ou «Khamedj», causée par le champignon imparfait, *Mauginiellascaetae*. la plus redoutable est la fusariose vasculaire appelée « Bayoud » due au champignon imparfait appartenant à l'espèce *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (MUNIER, 1973).

IV.1. Description et symptômes du bayoud

La fusariose vasculaire appelée « Bayoud » due au champignon tellurique appartenant à l'espèce *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Elle fut observée pour la première fois au Maroc, dans la vallée du Draa, vers 1890. Elle est répandue au Maroc et dans une grande partie des palmeraies de l'Algérie (figure10) (MUNIER, 1973).

Les premiers symptômes externes de la maladie apparaissent par dessèchement et blanchiment unilatérale sur une ou plusieurs palmes de la couronne moyenne. D'où les folioles se replient successivement sur les rachis et aussi l'apparition d'une nécrose brune qui parcourt le rachis de la palme atteinte de sa base vers son extrémité (MUNIER, 1973). Lorsque tout ce côté est atteint, le dépérissement commence sur l'autre côté, de l'extrémité

jusqu'à la base (**Bulletin OEPP/ EPPO, 2003**). En se desséchant, la palme fini, par mourir et prend l'aspect d'une plume mouillée, avec une couleur blanchâtre, d'où le nom du «Bayoud», qui dérive du mot arabe « abyed » et qui veut dire blanc (**DJERBI, 1990 ; OUINTEN, 1996**). Plus tard l'arbre entier dépérit et meurt. L'évolution de la maladie est plus ou moins rapide de quelque mois à plusieurs années et semble liée aux conditions climatiques et à l'alimentation en eau.

IV.2. Mode de pénétration du champignon

Le champignon pénètre à travers les racines et remonte dans les vaisseaux, entraînés par le courant de sève, gagne le bourgeon qu'il envahit progressivement ainsi que les palmes (figure11). Ce parasite se trouve dans les sols de palmeraie infectées et peut survivre plusieurs années même en absence de palmier (**MUNIER, 1973**).

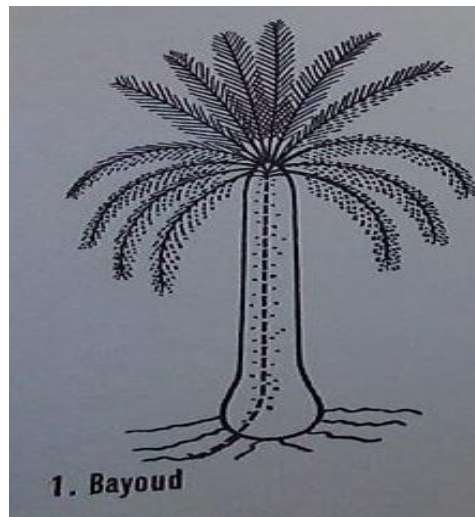


Figure n°11 : la pénétration du bayoud (**MUNIER, 1973**).

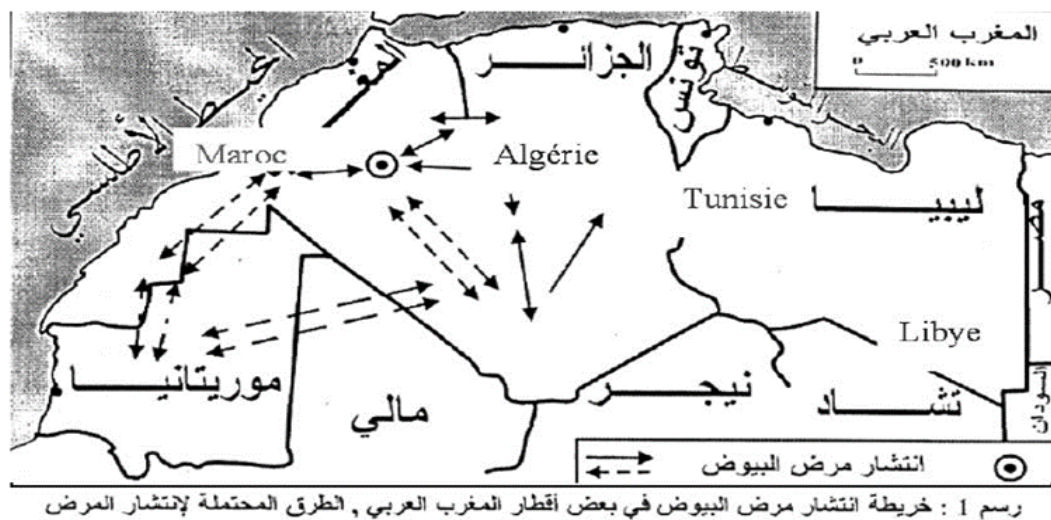


Figure n°12 : Répartition de la maladie du Bayoud dans les pays de l'Afrique du Nord (**SEDRA, 2001**)

IV.3. Les moyens de lutte

Quatre méthodes de lutte contre le Bayoud ont été adoptées sur le palmier dattier :

IV3.1. Mesures prophylactiques

Cette méthode est basée sur la protection des zones encore saines par l'interdiction d'importation du matériel en provenance des pays infectés (rejets, feuilles, etc.) (LOUVET, 1991), ou par la mise en quarantaine de régions infectées (BULIT *et al*, 1967).

IV3.2. La lutte chimique

C'est l'utilisation des fongicides à action systémique ou endothérapique. L'application de ces fongicides a donné des résultats encourageants pour la lutte contre ce pathogène (*Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*), l'utilisation répétée de ces produits de synthèse entraîne souvent la pollution de l'environnement et l'apparition chez le parasite de nouvelles souches résistantes et plus virulentes (OZBAZ et NEWMAN, 2004). De plus, leurs effets toxiques sont souvent signalés pour l'homme et l'animal (MESSIAEN et LAFON, 1970) et pour le déséquilibre biologique du sol.

IV3.3. La lutte biologique contre le Bayoud

Cette technique consiste à l'utilisation des micro-organismes résistants au *Foa*, notamment le genre *Pseudomonas* (MASLOUHY, 1989) ou *Bacillus* (CHAKROUNE *et al*, 2008) ou des champignons du genre *Aspergillus* ou *Penicillium* (CHAKROUNE *et al*, 2008). Cette stratégie de lutte est appuyée par l'existence de sols répressifs empêchant le développement de la maladie de Bayoud (SEDRA *et al*, 1998 ; OIHABI *et al*, 1992).

IV.3.4. La lutte génétique

Elle est basée sur la recherche de génotypes à la fois résistants et de bonne qualité fruitière à partir des hybrides naturels (Khalts) ou à partir de croisements dirigés entre des mâles résistants et des femelles de bonne qualité. Des travaux de recherche sur les croisements dirigés ont fait l'objet de nombreux programmes de sélection (TOUTAIN *et LOUVET*, 1974 ; DJERBI *et al*, 1985 ; LOUVET *et TOUTAIN*, 1973 ; SAADI, 1979, JAIN, 2011, ABED, 2012). Actuellement, les biotechnologies sont utilisées chez le palmier dattier comme étant une voie privilégiée pour établir une stratégie de préservation et d'amélioration de ce patrimoine phoenicicole telle que l'hybridation somatique et la radiomutagenèse (YATTA *et al*, 2014).

V. Radiomutagenèse

V.1. Induction de mutation

La mutation est un changement brusque et irréversible du matériel génétique due à une modification de la séquence des bases azotées de l'ADN, C'est un phénomène rare qui peut se produire de manière naturelle ou par agents mutagènes (**GRIFFITHS et al, 2001**).

Les agents mutagènes ne sont pas discriminatoires et ils produisent un mélange complexe de mutations, de changements structuraux de chromosomes et d'aberrations non génétiques. Les types de mutation seront cités comme suite :

Mutations somatiques ; Ce sont des changements non héréditaires car n'affectant pas le patrimoine héréditaire.

Mutations germinales ; Ce sont des changements héréditaires car elles atteignent les cellules reproductrices. Elles peuvent être perpétuées tant par la multiplication végétative que sexuée et correspond à l'apparition d'individus nouveaux ou mutants.

Mutations géniques ; La mutation d'un gène affecte la capacité qu'ont les organismes à synthétiser des protéines, soit qu'ils produisent une protéine modifiée à un point tel qu'elle en devient plus ou moins inactive. La forme mutante d'un gène correspond à une altération de la séquence nucléotidique de l'ADN, elle peut être dominante ou récessive.

Mutations chromosomiques ; Les chromosomes se caractérisent par l'information génétique qu'ils comportent, mais encore par la manière dont cette information est distribuée le long du chromosome.

Mutations numériques ; A la suite de mitose ou de méiose irrégulières, il peut se produire des pertes ou des gains de chromosomes, très comparable aux délétions et aux duplications induisant les mutants polysomiques (**GRIFFITHS et al, 2001**).

V.2. Les agents mutagènes

V.2.1. Les agents chimiques

Dans cette technique, on met une partie d'une plante généralement une graine en contact avec un gaz ou un liquide approprié, qu'il a une même action mutagène proche aux des agents physique. Les composés chimique sont très nombreux et pour n'en citer que les plus importants : MYLERAN(1-4 di-méthane- sulfonoxo-butane), EOC(8-ethoxycafeine), MSE . (Méthane sulfonate d'éthyle), uréthane, nitrosoguanidine (NG). Ces substances dites radiomimétique conduisent à l'obtention de mutants, tout comme le rayon gamma par exemple. Tout et les spectres de fois leur action n'est pas rigoureusement

identique à celle de rayon gamma et les spectres de mutants. C'est à dire, le gamma de nouveaux caractères obtenus, ne sont pas les même (ARRAUDEAU, 1998).

V.2.2. Les agents physiques

Plusieurs types de rayonnement peuvent être utilisés comme agent mutagène. LHERITIER (1975) les a classés en deux grands groupes, selon le mode d'absorption du milieu matériel :

- 1 **les radiations UV** : peu pénétrantes, leur énergie absorbée par les molécules produit seulement des excitations atomiques qui peuvent aboutir à l'établissement de nouvelles liaisons chimiques c'est à dire l'énergie n'a pas atteint le seuil d'ionisation mais qui pourraient, par contre, provoquer l'excitation des atomes qui ferait «sauter » un électron d'une orbital initial à une orbital supérieure.
- 2 **les radiations ionisantes** : l'absorption de l'énergie se fait au niveau des électrons, dont l'énergie est suffisante pour ioniser d'autres atomes ou molécules en libérant un électron de ces éléments et donnant naissance à des ions qui sont des radicaux hautement réactifs. Il existe deux catégories de ces radiations (LHERETIER, 1975, BEAUDRY ,1984).Ceux qui sont particuliers et non particuliers.
 - **Radiations particulières** : comprenant les rayons alpha, rayons bêta et protons ou neutrons. ils sont très efficaces pour la production de mutations dans les plantes (BOUSSAHA, 1988).GENEVOIS (1973) signale que la mutation par ces radiations particulières se manifestent d'une façon très différente des mutation par rayon X
 - **Radiation non particulière** : ce sont des radiations de courte longueurs d'onde et pénétrantes : rayon X, rayon cosmique et rayon gamma.

Les rayons X, gamma sont produits par des sources radioactives (généralement le cobalt 60 ou le césium 137), ils sont dépourvus de charge et de masse et se propagent à la vitesse de la lumière. De même nature que les ondes radioactives, ils sont plus énergétiques que les rayons X, avec un pouvoir de pénétration dans la matière plus élevé (plusieurs cm dans les tissus).

V.3. Mécanismes d'action des radiations ionisantes

Lorsqu'un rayonnement pénètre dans la matière, que celle-ci soit inerte ou vivante, il peut interagir avec les atomes rencontrés et perdre à chacune de ces interactions une partie de son énergie. Cette énergie cédée sur place est transférée au milieu traversé, ce qui se traduit par des ionisations (arrachement d'électrons) et des excitations (transitoires des atomes concernés).

Parmi les dommages qui résultent sur la molécule d'ADN, il y a des ruptures des liaisons de covalence, chaque radical emportant avec lui son électron célibataire. Ces radicaux libres vont réagir entre eux et avec les molécules du milieu. A terme, les lésions moléculaires résiduelles après une cascade de réactions chimiques correspondent le plus souvent à des ruptures et à des pontages moléculaires (**AZRIA et al ; 2007**).

L'irradiation agit au niveau de la membrane cellulaire sur la perméabilité et en induisant des chaînes de réactions encore incomplètement connues, par l'intermédiaire de la dégradation des phospholipides (peroxydation lipidique). L'irradiation agit au niveau du cytoplasme sur les ribosomes et les mitochondries : ce site d'action semble peu important. Par contre, ce sont les lésions de l'ADN (acide désoxyribonucléique) du noyau qui vont être responsables des effets biologiques des radiations ionisantes (**AZRIA et al ; 2007**).

Ces lésions de l'ADN peuvent être directes, liées à l'interaction d'un électron d'ionisation avec la molécule d'ADN, ou le plus souvent indirectes, par l'intermédiaire des radicaux libres créés par la radiolyse de l'eau. Autrement dit lorsqu'une cellule est exposée à un rayonnement ionisant, le rayonnement peut entrer en interaction non seulement avec l'ADN mais aussi avec l'eau contenue dans la cellule. Lorsqu'il entre en interaction avec les molécules d'eau, le rayonnement peut rompre les liaisons qui tiennent ensemble la molécule et libérer ainsi des ions d'hydrogène (H^+) et d'hydroxyle (OH^-). Ces ions se combinent alors parfois avec d'autres ions pour former des substances telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ce qui peut entraîner la destruction de la cellule. Les ions d' OH^- peuvent aussi attaquer l'ADN. Par exemple une dose de 1 Gy crée au sein de l'ADN d'une cellule 40 lésions « double brin » (ruptures des deux chaînes de l'ADN), de 500 à 1 000 lésions « simple brin » (ruptures d'une seule chaîne), de 1000 à 2000 lésions de base (il y a les transversions (purines vers pyrimidines et vice-versa) et transitions (purines en purines et pyrimidines en pyrimidines) et environ 200 pontages (ADN-ADN ou ADN-protéine) (**AZRIA et al ; 2007**).

Les lésions « double-brin », les plus graves et les plus difficiles à réparer pour la cellule, sont classiquement considérées comme les principales lésions responsables de l'effet (cellulaire) léthal des radiations ionisantes (**AZRIA et al ; 2007**).

Les conséquences de l'irradiation dépendent de la gravité des dommages et de leur nombre. Pour une atteinte mineure, les enzymes réparatrices de la cellule peuvent agir et réparer les lésions. Cependant si la réparation n'est pas fidèle, la séquence des gènes sera modifiée et il en résulte l'apparition de mutation génique. Pour une atteinte plus importante, l'irradiation conduit à la mort cellulaire immédiate ou différée (**AZRIA et al ; 2007**).

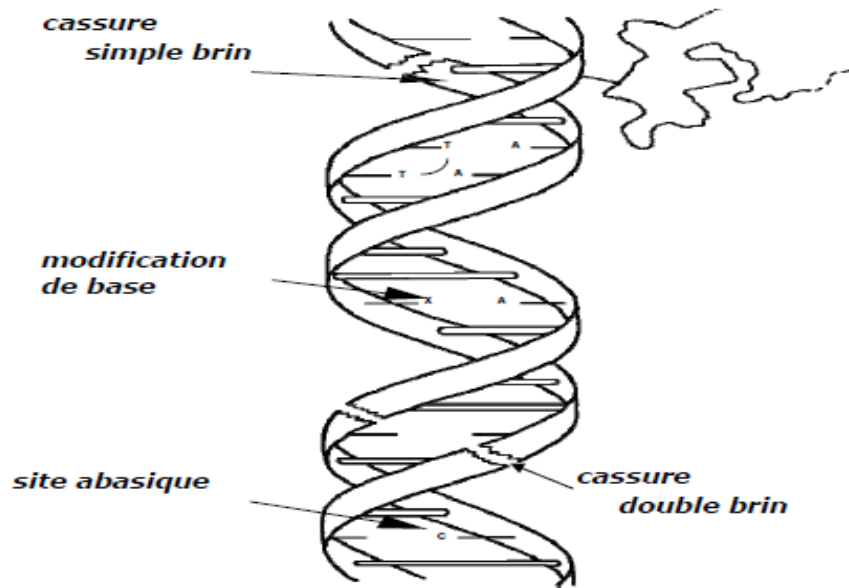


Figure n°13 : Représentation schématique des lésions de l'ADN induites par des rayonnements ionisant (AZRIA et al ; 2007).

V.4. Intérêt pratique des mutations provoquées par les radiations, dans l'amélioration des plantes cultivées

Pour de nombreuses espèces cultivées il existe des variétés présentant beaucoup de caractères intéressants mais qui présentent un défaut (sensibilité aux maladies, à la verse, etc...). La méthode d'amélioration classique consiste à faire une succession de croisements. Dans le cas où le caractère désirable est récessif, la méthode classique est longue et laborieuse, donc la production artificielle de mutation peut alors être plus rapide (BUSCARLET, 1967). D'après le même auteur, les mutations peuvent être utiles au sélectionneur dans le cas où l'espèce à améliorer présente une variabilité génétique faible (BUSCARLET, 1967)

Les mutations induites sont désormais un moyen sûr de provoquer des changements dans une même variété. Elles permettent de provoquer l'apparition de caractères souhaités qui ne se rencontrent pas dans la nature ou se sont perdus au cours de l'évolution (NOVAK et al, 1992). Les mutations induites par rayons gamma, rayons x neutrons rapides ou substances chimiques ont permis d'obtenir quelques grands succès dans le domaine de l'amélioration des plantes. Des plantes mutantes bénéfiques sont sélectionnées et utilisées par les phytogénéticiens depuis plus de 50 ans. A ce jour, la base de données de variétés de mutantes

(FAO/IAEA mutant variety database) comprend près de 2500 variétés officiellement enregistrées de mutants de plus de 160 espèces végétales du monde entier (FAO/IAEA, 2006). À titre d'exemple : riz muté par irradiation ; la pomme «Golden Haldegg», d'une valeur marchande supérieure, a été obtenue aux Laboratoires de Seibersdorf par irradiation de boutures de «Golden Delicious» ; Bananier muté par irradiation pour qu'il soit résistant à la maladie de Panama (NOVAK et al, 1992).

Chapitre II :
Etude
expérimentale

Matériels et méthodes

L'expérimentation a été menée au niveau de la division Biotechnologies et amélioration des plantes de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA) de Baraki, qui a duré 8 mois. L'objectif de ce travail est de développer le processus de régénération par la technique de l'embryogenèse somatique pour l'intégrer dans les programmes d'amélioration.

Une étude comparative a été réalisée sur les capacités de régénération de cals embryogènes irradiés et non irradiés de deux cultivars sensibles (Tegaza et Deglet noir) au bayoud.

1- Matériel végétal

Des souches de cals embryogènes irradiés au Cobalt 60 à la dose de 15 GY, issus de cœurs de rejets du palmier dattier des variétés Tegaza et Deglet noir initiés sur des milieux d'induction (**Abed, 2012**) sont utilisées comme source végétale.

La variété Tegaza témoin.

La variété Tegaza irradiée.

La variété Deglet noir témoin.

La variété Deglet noir irradiée (figure n^o 14).

Ces cals embryogènes ont subi une irradiation avec des rayons Gamma, la source de l'irradiation est le cobalt 60, avec une dose de 15 Gy. L'irradiation des cals s'est faite au niveau du Centre Nucléaire d'Alger.

Nous avons utilisé pour chaque variété irradiée et non irradiée (témoins) : des échantillons de 10 boucaux contenant chacun 3 cals de 1g /Bocal avec 3 répétition

Des observations sont effectuées pour contrôler l'apparition des infections qui se manifestent généralement dans les quarante-huit heures qui suit les repiquages. Les caractères observés durant le développement des cultures sont les suivants :

- Aspect du cal
- Le nombre de prolifération
- Le nombre de germination
- Le nombre des plantules
- Formation des racines
- Observation des malformations
- Apparition des nécroses
- La couleur

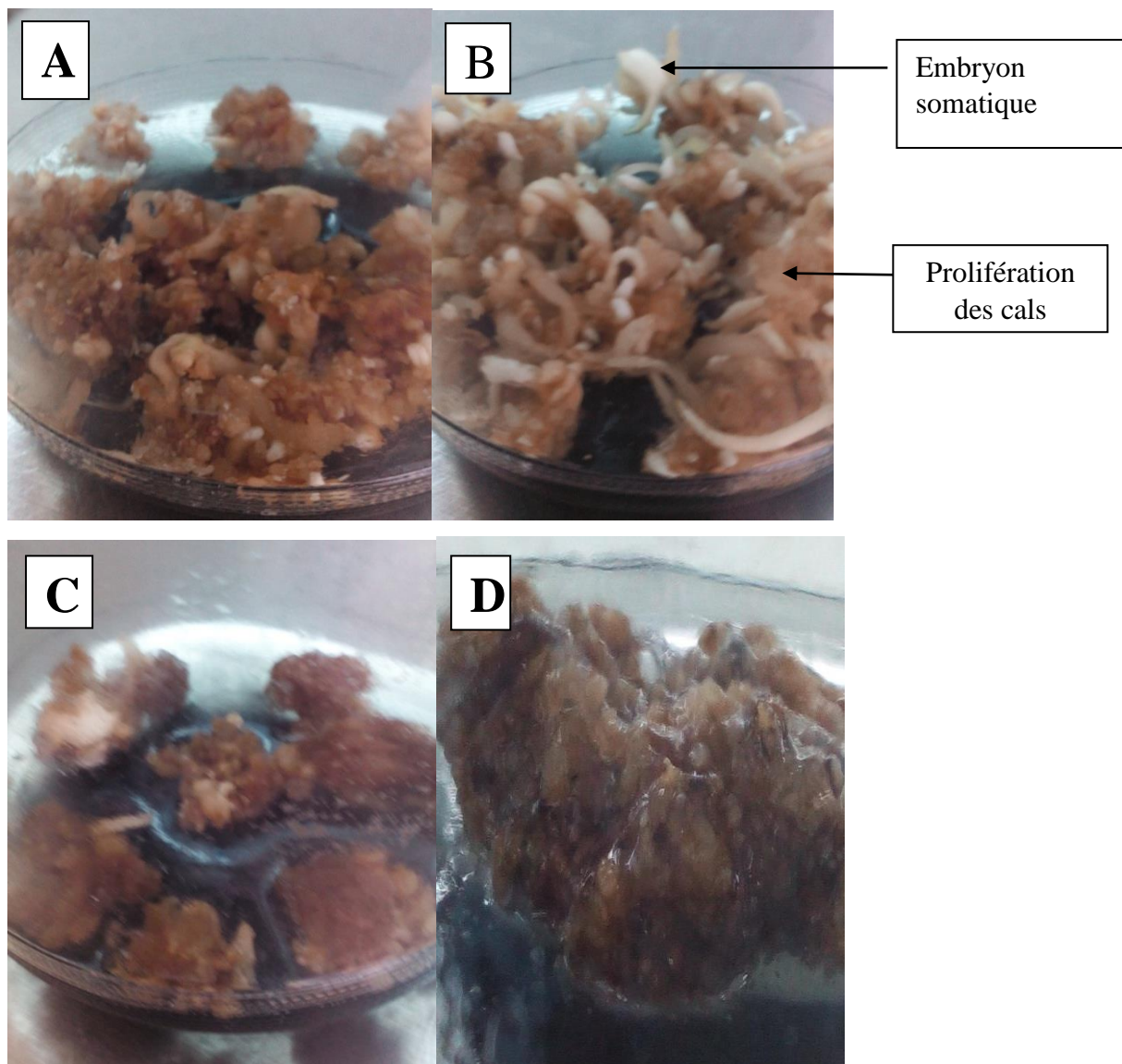


Figure n° 14 : Les types des cals utilisés pour les deux variétés ; (A) Les cals de la variété Deglet nour irradiée ; (B) Les cals de la variété Deglet nour témoin ; (C) Les cals de la variété Tegaza témoin ; (E) Les cals de la variété Tegaza irradiée (originale).

2- Méthodes

2-1 Technique de stérilisation

2-1-1 Stérilisation du matériel de laboratoire

Les bocaux sont nettoyés à l'aide d'un détergent commercial (Isis) et rincés avec de l'eau ensuite à l'eau distillée. Ils sont ensuite stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Les instruments utilisés dans le repiquage comme les scalpels, les pinces longues et courtes sont stérilisés dans des boîtes de stérilisation à l'étuve à 180°C pendant 3 heures. Le papier sur lequel les cultures sont préparées pour le repiquage est enveloppé dans du papier aluminium et stérilisés à l'étuve à 180°C pendant 3 heures.

2-1-2 Stérilisation du milieu de culture

La stérilisation du milieu de culture est assurée par l'autoclave à une température de 120° C pendant 20 minutes afin de s'assurer de la destruction des microorganismes contaminants.

2-1-3 stérilisation des instruments et de l'enceinte de travail

Pour réussir la culture *in vitro* les conditions d'asepsie totale doivent être réunies à savoir :

- Nettoyer la hotte avec de l'alcool à 70°
- Allumer la hotte, au moins une demi-heure avant chaque manipulation.
- Les instruments de travail (scalpels et pinces) qui sont ainsi stérilisés par l'étuve, sont placés dans un stérilisateur à bille puis posés sur un support métallique stérile. (il faut toujours tripler les instruments de travail, pour permettre le refroidissement des uns tandis que les autres sont en usage ou en stérilisation dans le stérilisateur à billes).
- Tous les instruments de travail doivent être à la portée du manipulateur de façon à avoir le moins de gestes à faire au cours de la manipulation (de grands mouvements entraînent des déplacements d'air donc des risques de contamination).
- Les mains doivent être lavées au savon et désinfectées à l'alcool 70°.
- Les instruments stérilisés doivent être disposés de façon à les avoir dans l'aire stérile.

2-2 Méthode de préparation du GMN200

Le sucre et les autres additifs sont pesés à l'aide d'une balance de précision. Les Macroéléments MS Modifié (40gm/l), Microéléments MS (10mg/l) et le Fer (10mg/l) sont prélevés à partir de solutions mères préalablement préparées (Annexe 6) et ajoutées aux autres

additifs avec le sucre dans un récipient. La moitié du volume de milieu de culture à préparer est ajouté à la composition par de l'eau distillée. Le milieu est chauffé jusqu'à ébullition (90°C). Le reste du volume du milieu est ajouté pour refroidir le milieu préparé. La vitamine(Thiamine) est ajoutée en dernier (tableau 2). Le pH est ajusté à 5,8 et est distribué à l'aide d'un distributeur automatique dans des bocaux à 80 ml par bocal de 250ml. Les milieux sont ensuite stérilisés dans un autoclave à 120°C pendant 20min.

Tableau n^o2 : Les composants du milieu de germination du GMN200

	Éléments	Dose
Partie organique	Saccharose	60g
	Phytigel	2g
	Charbon actif	200mg
Partie minérale (Solution mère)	Macro Ms modifié	40ml
	Micro Ms	10ml
	Fer Ms	10ml
Les vitamines	Thiamine	1ml
	KH ₂ PO ₄	100mg
	NAH ₂ PO ₄	170mg
	Myo-INOSITOL	100mg
	L-GLUTAMINE	200mg
	ADENINE	40mg
	NH ₄ NO ₃	200mg

2-3 Repiquage

Les repiquages sont effectués tous les 2 mois dans le but de renouvellement de milieu de culture solide pour les cals. On doit vérifier d'abord s'il n'y a pas d'infection dans le bocal qui contient les cals à repiquer, ensuite on fait sortir les cals à l'aide d'une pince longue et les mettre dans un papier stérile à l'intérieur de la hotte. Puis, on élimine et on coupe tous les tissus nécrosés. On pèse à l'aide d'une balance de précision un gramme de matière végétale et on la met dans un bocal contenant un milieu de culture neuf, chaque bocal peut contenir trois cals.

Les bocaux sont alors scellés avec du parafilm, pour assurer une meilleure protection contre les contaminations et on les place dans une chambre de culture où la température est de 28°C jour et 22°C de nuit, avec une photopériode de 16h.

L'évolution des cals a été suivie pendant 6 mois dans le milieu de GMN200. La fréquence des repiquages est de 2 mois.

2-4 Dosage des protéines solubles totales

Afin de tester les capacités morphogénétiques des cals embryogènes irradiés une étude a porté sur le dosage des protéines solubles de cals irradiés et non irradiés. Pour cette expérimentation nous avons pris pour chaque variété, trois types de cals avec 3 répétitions. Pour chaque cal nous avons noté son origine, sa texture et sa couleur.

2-4-1 Préparation du tampon d'extraction

La solution tampon de Tris-HCL de 200ml (pH=8,1) contenant 2,42g de tris-HCL, 20g de saccharose et 100µl de mercaptoethanol.

2-4-2 Extraction des protéines

Dans un tube eppendorf, 100 mg de cal fraîche sont broyées dans 1000µl de tampon d'extraction et maintenu au froid dans la glace. Une centrifugation est ensuite réalisée à 15000 tr / mn pendant 5 min à 4°C. Le surnageant qui contient les protéines solubles à doser est récupéré.

Dans chaque eppendorf, 800 µl de réactif de Bradford sont ajoutés à 200µl de surnageant, bien agité au agitateur et après 2 à 3 minutes de repos, la lecture est faite au spectrophotomètre, à une longueur d'ondes $\lambda = 595$ nm (figure n° 15 et n° 16).

2-4-3 Principe du dosage

La méthode utilisée dans notre expérience est celle de Bradford (1976), qui consiste à une coloration des protéines par le Bleu de Coomassie G250 pour former un complexe de coloration bleu avec les protéines. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des protéines et le maximum d'absorption est situé à une longueur d'ondes $\lambda = 595$ nm.

2-4-4 Gamme d'étalon

Une solution mère de Sérum Bovine Albumine (BSA) est préparée à une concentration de 400 µg/ ml. De cette dernière une série de dilutions est effectuée (Tableau n° 03 ci-après).

Tableau n° 03 : Dilutions de la courbe d'étalonnage.

Dilution	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
BSA (µg /ml)	0	20	40	60	80	100	120
V1 (µl)	0	50	100	150	200	250	300
L'eau distillée (µl)	1000	950	900	850	800	750	700
Bradford (µl)	0	800	800	800	800	800	800

Pour déterminer la concentration des protéines dans l'extrait enzymatique de chaque échantillon, 200 µl de chaque extrait est mélangé avec 800 µl de réactif de Bradford, bien agité au agitateur et après 2 à 3 minutes de repos, la lecture de la densité optique (D.O.) est faite à la longueur d'ondes $\lambda = 595$ nm.

La courbe étalonnage est réalisée à partir d'une gamme de concentrations croissantes de caséine : 0 ; 20 ; 40 ; 60 ; 80 ; 100 et 120 µg/ml. La conversion des D.O en concentrations (mg/ml) a été réalisée à partir de l'équation : $Y = 0,0061 X$ ($R^2 = 0.916$).

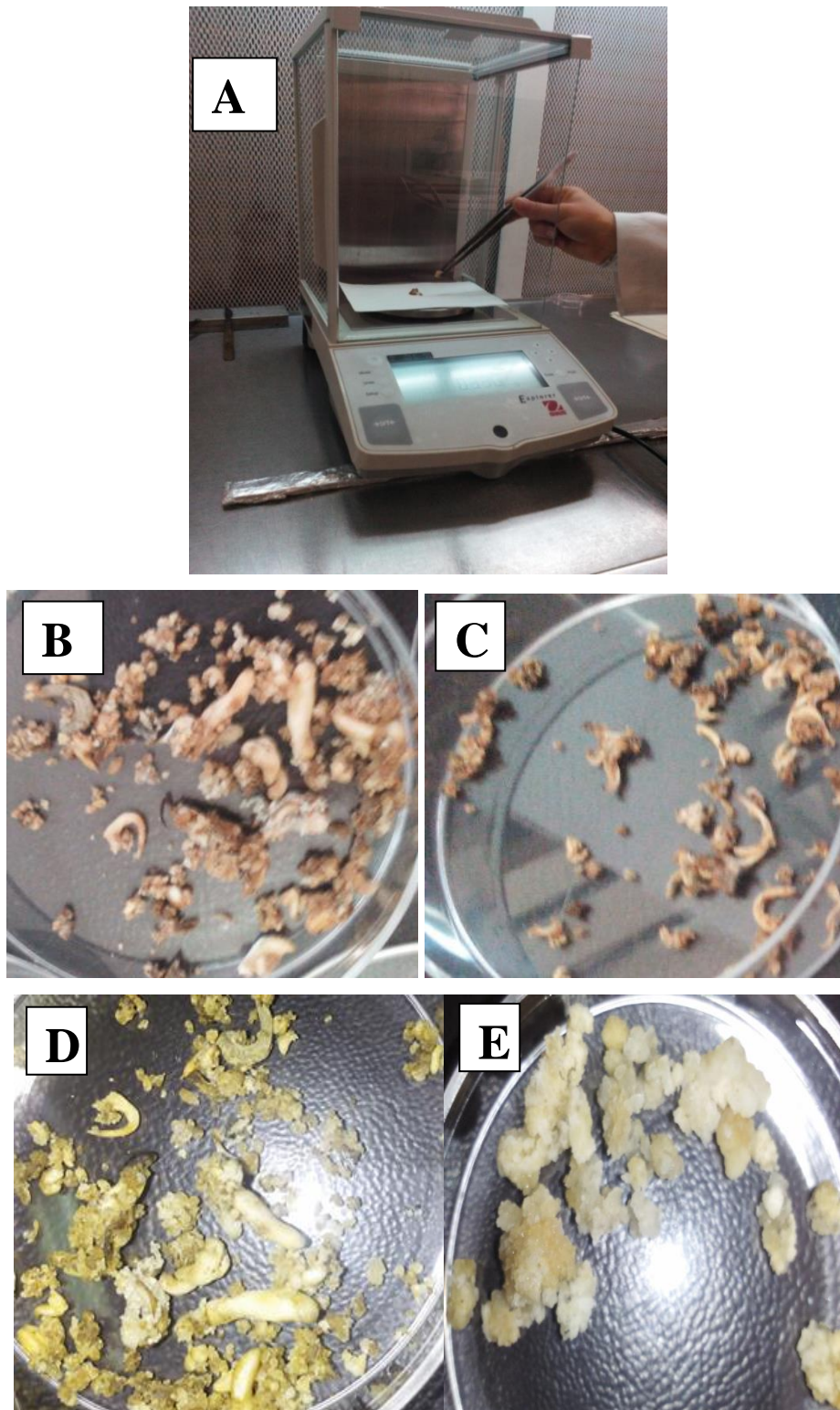


Figure n° 15 : Préparation de l'échantillon ; (A) La pesé des échantillons à l'aide une balance de précision sous hotte à flux laminaire ; (B) fragment de cal de la variété Tegaza témoin ; (C) fragment de cal de la variété Tegaza irradiée ; (D) fragment de cal de la variété Deglet noir irradiée ; (E) fragment de cal de la variété Deglet noir témoin (originale).

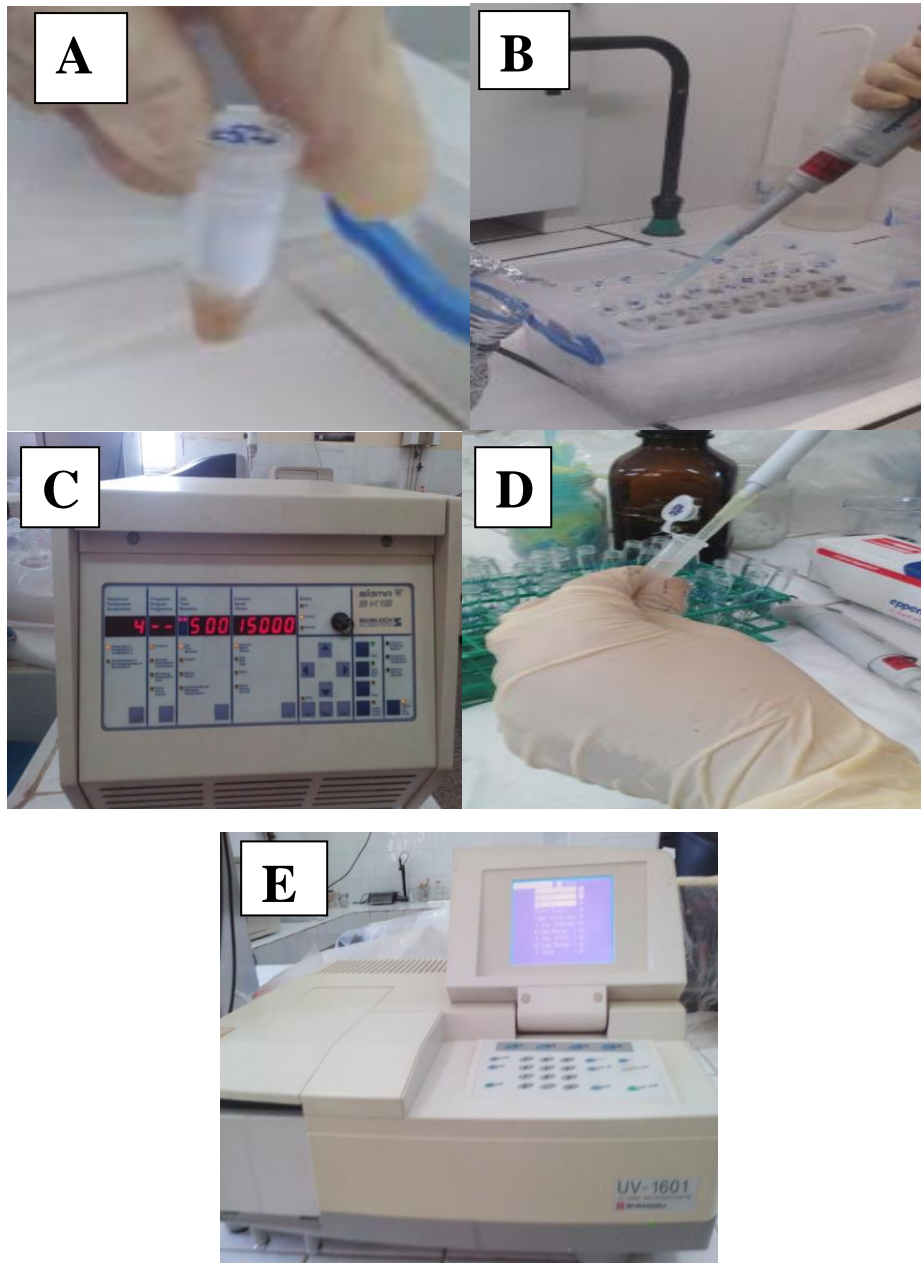


Figure n° 16 : Extraction des protéines : (A) Broyage des proembryons dans un eppendorf ; (B) L'addition de tampon d'extraction aux eppendorfs des proembryons broyé ; (C) Centrifugation ; (D) Récupération du surnageant ; (E) lecture de la densité optique des échantillons à 595nm (originale).

3- Méthodes d'analyses statistiques

3-1 Description des données

Pour mieux décrire les différentes variables morphométriques, et biochimiques qui caractérisent chacun des cultivars de palmier dattier étudiés, nous avons calculés certains paramètres statistiques de base tels que la moyenne arithmétique (\bar{x}), qui est un paramètre de position et l'écart-type, qui mesure la dispersion des données autour de la moyenne. Ces paramètres ont été calculés à l'aide du logiciel d'analyse et de traitement statistique des données XLSTAT version 2014 pour chacune des caractéristiques par cultivar.

3-2 Analyse de la variance (ANOVA)

Le test d'analyse de la variance à un critère ou à un facteur de classification consiste à comparer plus de deux moyennes de plusieurs populations à partir des données d'échantillons aléatoires simples et indépendants (**DAGNELIE, 2006**).

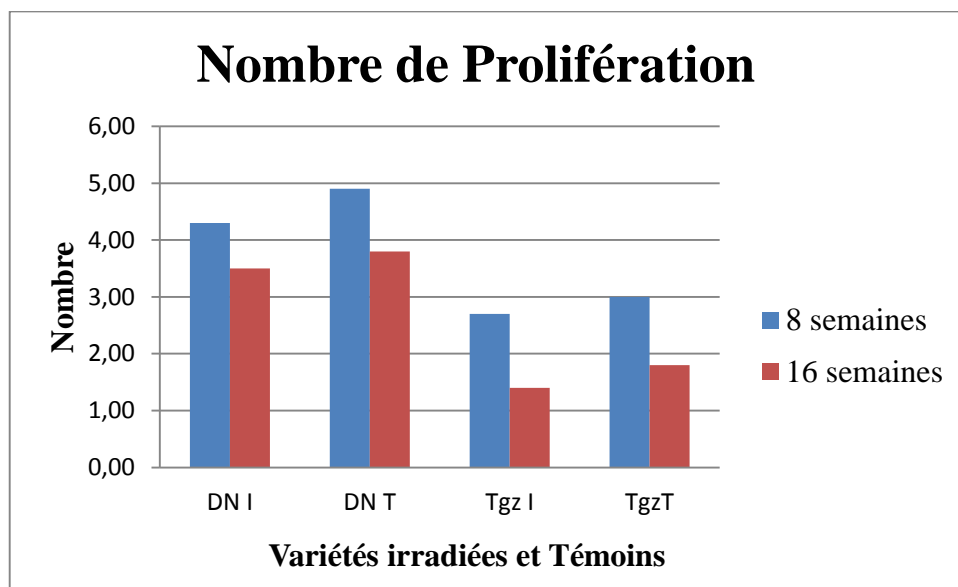
Ce test a été utilisé pour comparer entre les deux cultivars (Deglet nour et Tegaza) irradiées et témoins pour l'ensemble des caractères quantitatifs de la description des cals.

*Chapitre III :
résultats et
discussions*

1- Effet de l'irradiation sur les cultures cals embryogènes irradiées

Le but de cette expérimentation est de voir l'effet de l'irradiation sur le processus d'embryogenèse somatique afin de l'intégrer dans le programme d'amélioration de l'espèce vis-à-vis du bayoud. Lors de notre expérimentation nous avons suivi le stade de germination des cals embryogènes irradiés comparés aux témoins de deux variétés de palmier dattier après 8 semaines et 16 semaines de culture.

1-1 Prolifération



DNI=Deglet nour irradiée ; DNT = Deglet nour Témoin ; TgzI=Tegaza irradiée ; Tgz T= Tegaza Témoin

Figure n°17 : représentation graphique du nombre de prolifération pour les variétés irradiées et témoins

En ce qui concerne la prolifération, l'analyse de la figure n°17 montre que le nombre de prolifération des variétés irradiées et témoins diminue après 16 semaines de culture quel que soit la variété. Notons que la variété Deglet nour témoin et irradiée présente une dominance nette avec un nombre de prolifération plus élevé de $4,9 \pm 0,57$ et de $4,3 \pm 0,95$) avec une moyenne de (alors que la variété Tegaza témoin et irradiée (de $2,8 \pm 1,64$ et de $3 \pm 2,05$). Ces résultats corroborent avec plusieurs auteurs (EL HADRAM I et al, 1997, SAKA

et al. 1997, FKI 2005, ABED et al. 2014 ; YATTA et al. 2014) qui rapporte cette différence à l'effet génotypique.

On remarque aussi que les cals irradiés quel que soit la variété ont donné moins de prolifération que les témoins. Les cals embryogènes des variétés témoins de Deglet nour (DNT) et de Tegaza (TgzT) ont bien proliférés par rapport aux cals irradiés des deux variétés. Ceci nous ramène à dire qu'il y a une différence significative entre les cals irradiés et non irradiés.

1-2 Germination des embryons somatique

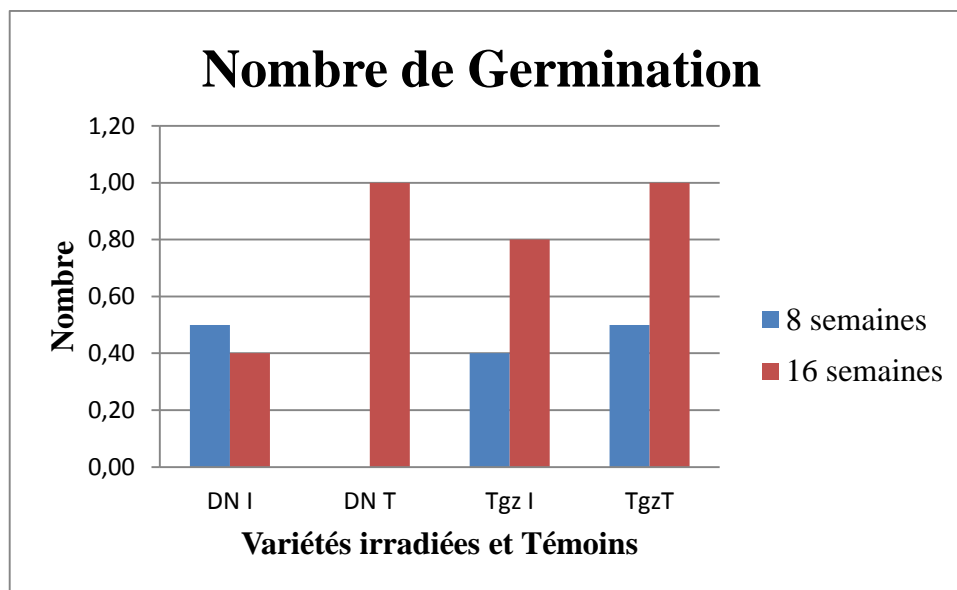


Figure n^o18 : représentation graphique de nombre de germination pour les variétés irradiées et témoins

Les résultats obtenus dans la figure n^o18 montre que le nombre de germination est important et que le processus de germination a bien eu lieu après 16 semaines de culture pour les variétés irradiées et les variétés témoins. Après 16 semaines, le nombre de germination chez la Deglet nour témoin (DNT) est le même que chez la Tegaza témoin (TgzT) (de $1 \pm 0,94$).

La germination de Deglet nour témoin est apparue qu'après 16 semaines de la culture (de $1 \pm 0,94$) alors que la germination chez la Tegaza a eu lieu après 8 semaines seulement de $0,4 \pm 0,7$. Ce qui nous permet à dire qu'il y a une différence non significative. En effet plusieurs auteurs ont rapportés l'effet asynchronisation des embryons (SAKA et al, 1997 ; FKI, 2005 ; YATTA, 2007 ; ABED, 2012). Notons que chez les variétés irradiées, la

germination a lieu après 8 semaines mais le nombre est plus faible que chez les variétés témoins.



Figure n^o 19 : Photo de la germination

1-3 Régénération

1-3-1 Régénération de plantule

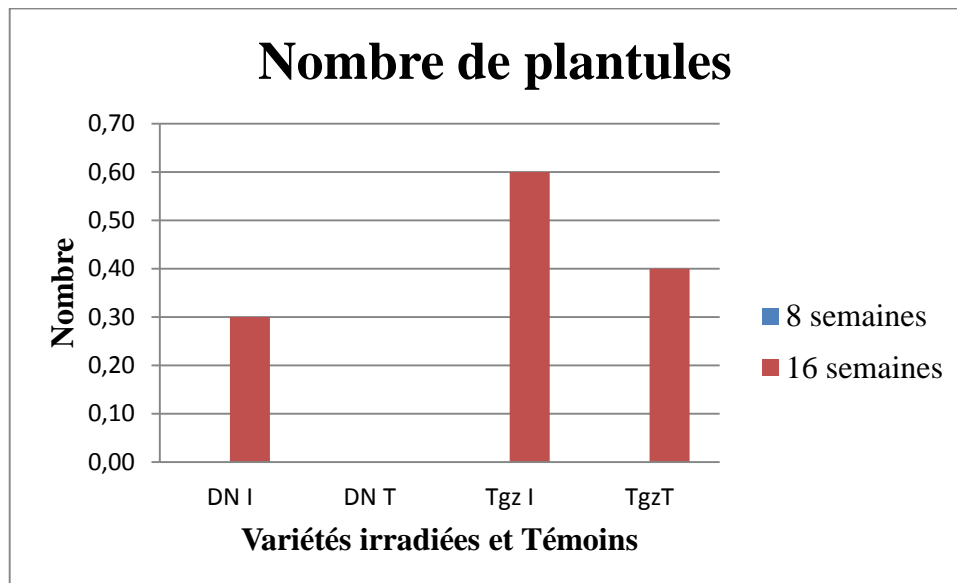


Figure n^o20 : représentation graphique de nombre des plantules pour les variétés irradiées et témoins

On observe sur la figure n^o20, que la variété TgzI présente le nombre de plantules le plus élevé (de $0,6 \pm 0,84$) alors que la variété DNT n'a développé aucune plantule. Cette différence est liée au stade de l'embryon en germination, on remarque aussi que les cals de Tegaza ont eu le moins de prolifération ce qui nous mène à dire que les cals embryogènes de

départ étaient à un stade avancé par rapport aux cals de la variété Deglet noir. On note aussi que le développement des embryons en plantules débute qu'à partir de 16 semaines de culture.

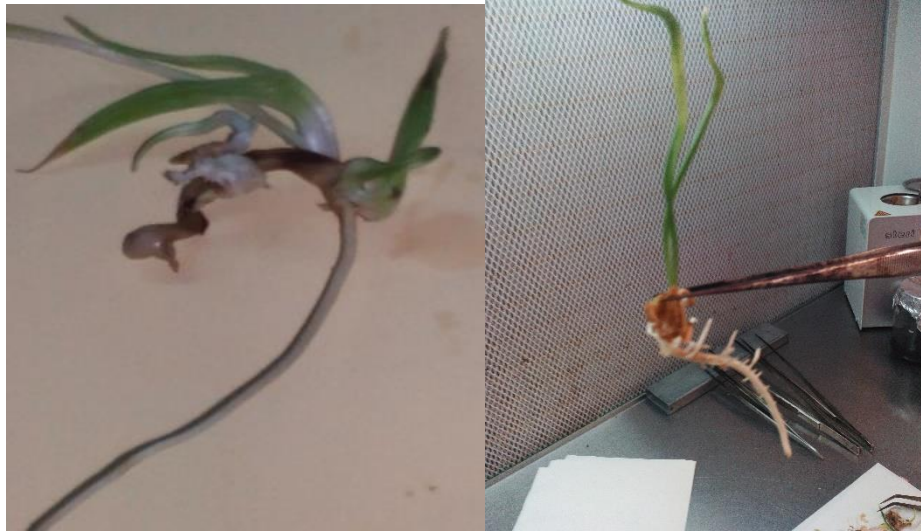


Figure n° 21 : photo d'une plantule

1-3-2 Régénération en racines

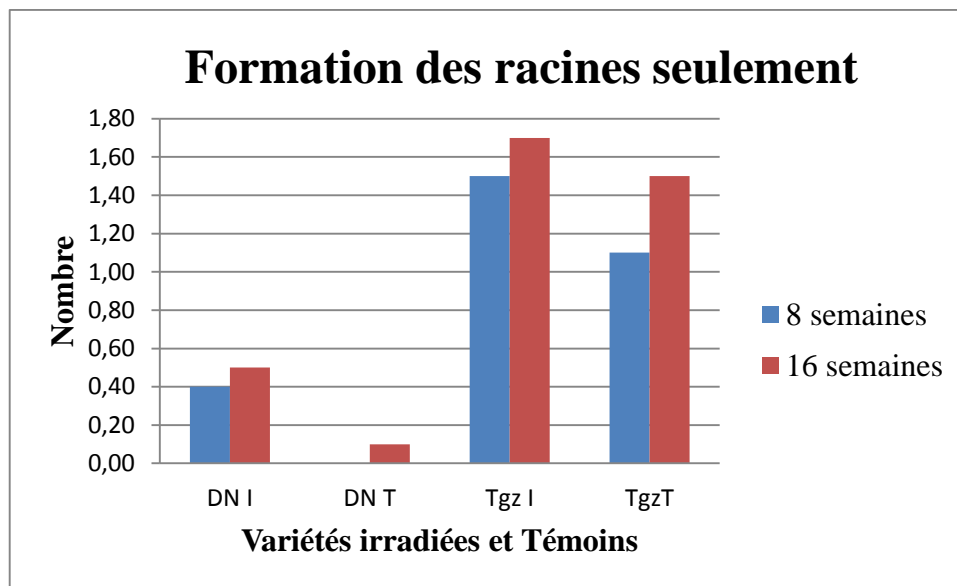


Figure n°22 : représentation graphique de nombre de formation des racines seulement pour les variétés irradiées et témoins

Concernant la formation des racines seulement sans la partie caulinaires, on remarque que le nombre de formation des racines est plus élevé chez la variété TgzI (de $1,7 \pm 1,25$). Par contre la variété Deglet noir témoin présente le nombre le plus faible après 16 semaines de culture (de $0,1 \pm 0,32$). Ceci nous mène à dire que l'irradiation des cals a eu un effet négatif sur le processus embryogène des cellules somatiques.

On remarque que les deux variétés irradiées ont une capacité d'avoir des formations de racines seulement. Selon **ABED et al (1999)**, ce phénomène est dû à l'hétérogénéité des cals ce qui se traduit par une évolution du cal en racine ou un type de cal qui n'évolue pas.



Figure n° 23 : photo d'une formation des racines

1-3-3 Malformation obtenues

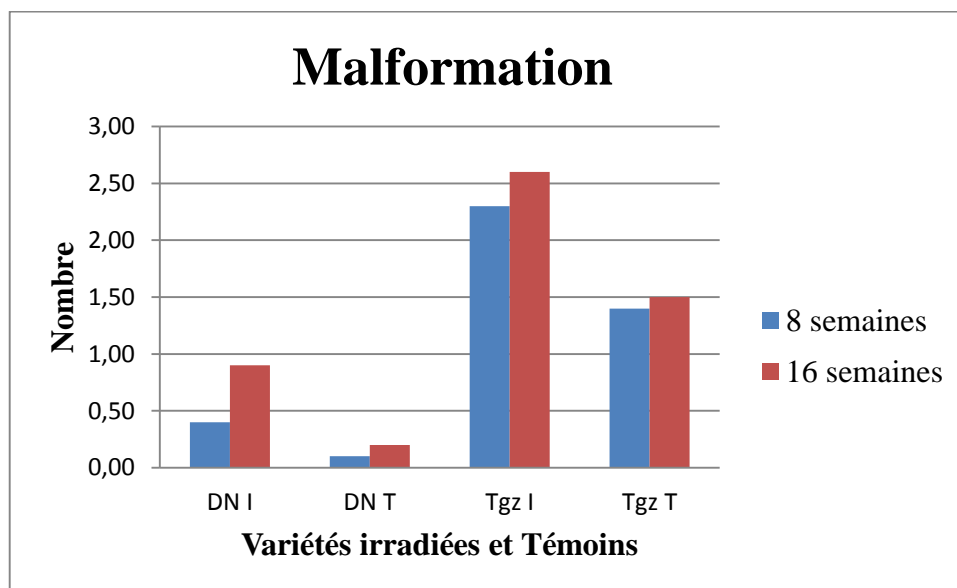


Figure n°24 : représentation graphique de nombre de mal formation pour les variétés irradiées et témoins

Des anomalies ont été observées au cours de la germination chez les embryons irradiés. On constate que les irradiés présentent une dominance nette par rapport aux

témoins qui eux présentent un faible nombre en malformation avec une moyenne de $0,1 \pm 0,32$ après les 8 semaines de culture et de $0,2 \pm 0,42$ après les 16 semaines de culture.

D'après **GRIFFITHS et al, (2001)**, ce sont des mutations géniques, elle affecte la capacité qu'ont les organismes à synthétiser des protéines, soit qu'ils produisent une protéine modifiée à un point tel qu'elle en devient plus ou moins inactive. **ABED et al, (1999)** rapporte que cette formation des racines seulement due à l'obtention des cals hétérogènes lors de la prolifération ce qui traduit par l'évolution des racines.

On remarque aussi que $F > F$ critique ($6,736494598 > 2,139655516$). Ceci permet à dire qu'il y a une différence significative.

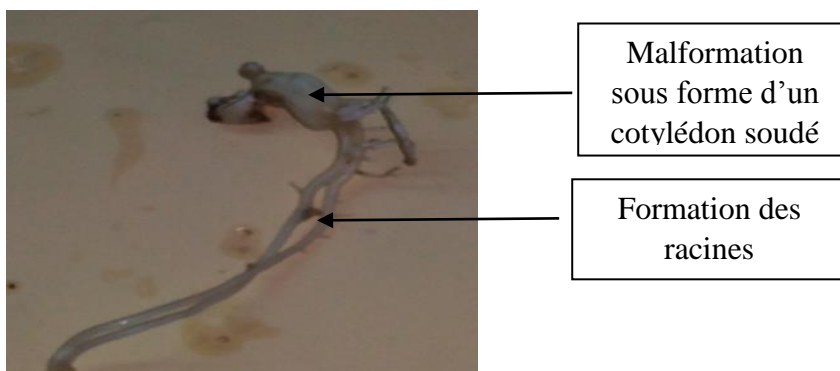


Figure n° 25 : photo d'une mal formation et formation des racines

2- Expression physiologique de cals irradiées

2-1 Nécroses obtenues sur les cals embryogènes irradiés

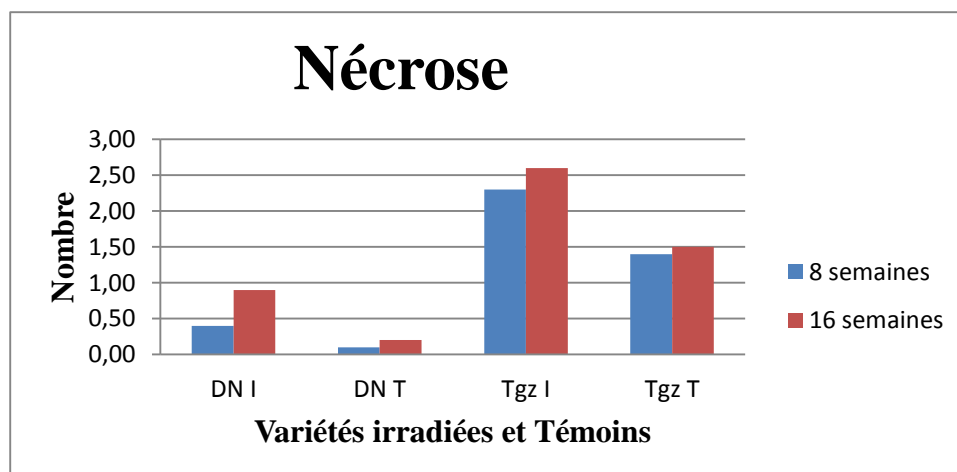


Figure n°26 : représentation graphique de nombre de nécrose pour les variétés irradiées et témoins

On observe sur la figure n°26, que le nombre de nécrose pour la variété TgzI et TgzT (de $4,6 \pm 0,7$ et de $2,4 \pm 1,07$) sont beaucoup plus important que celle de DNI et DNT (de $0,4 \pm 0,7$). On remarque aussi que la variété DNT présente le nombre le plus faible de nécrose. Les plantes pour se défendre synthétisent les polyphénols lors d'une infection par un microorganisme ou un choc physiologique. Les nécroses sont aussi souvent liées au génotype. Tous les cals de la variété Tegaza sont de couleur marron, cette forte synthèse de polyphénols observée est souvent cause de la mort des tissus si le milieu n'est pas renouveler à temps et le tissu nécrosé n'est pas éliminé.

2-2 Teneur en protéines solubles totales des cals

Après la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'ondes $\lambda = 595 \text{ nm}$, les résultats de la densité optique de chaque dilution sont représentés sur le Tableau n°4. Ils seront par la suite reportés sur la figure n°27 qui constitue la courbe d'étalonnage D.O. = f (concentrations).

La concentration en protéine dans chaque échantillon d'extrait enzymatique, est calculée par l'équation de la droite de la courbe d'étalonnage (Tableau n°4).

Tableau n°4 : Densité optique (D.O.) de chaque dilution

BSA (µg/ml)	0			20			40			60			80			100			120		
Dilution	T0			T1			T2			T3			T4			T5			T6		
Répétition	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
D.O	0	0	0	0,013	0,55	0,57	0,63	0,36	0,29	0,45	0,48	0,38	0,55	0,57	0,63	0,57	0,63	0,57	0,66	0,7	0,6

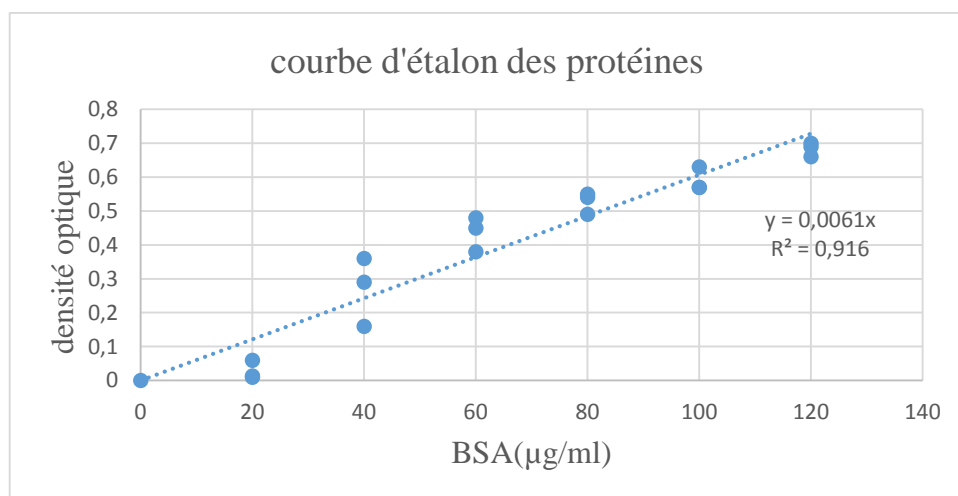


Figure n° 27 : Courbe d'étalonnage des protéines

2-2-1 Teneur en protéines chez la variété Tegaza

Tableau n^o5 : Teneur en protéines pour la variété Tegaza irradiée et témoin

	Texture des cals	Densité optique	Teneur en protéines µg /ml
TgzI	Compact	0	0
	Compact	0	0
	Compact à friable	0,095	15,573
Tgz Tm	Friable	0.713	116,885
	Friable	0.859	140,819
	Friable	0.267	43,7704

La teneur en protéines solubles totales, exprimée en µg par ml de matière fraîche dans les cals pour la variété de Tegaza irradiée est inférieure à celle de Tegaza témoin (tableau n^o5).

2-2-2 Teneur en protéines chez la variété Deglet Nour

Tableau n^o6 : Teneur des protéines pour la variété Deglet nour irradiée et témoin

	Texture des cals	Densité optique	Teneur en protéines µg /ml
DNI	Friable	0.146	23,934
	Friable	0	0
	Friable	0.208	34,098
DN Tm	Friable	0.074	12,131
	Friable	0.16	26,229
	Friable	0.14	22,950

La teneur en protéines solubles totales, exprimée en µg/ml de matière fraîche dans les cals pour la variété de Deglet nour irradiée est presque proche à celle de Deglet nour témoin (tableau n^o6).

2-2-3 Comparaison de la teneur en protéine chez les deux variétés

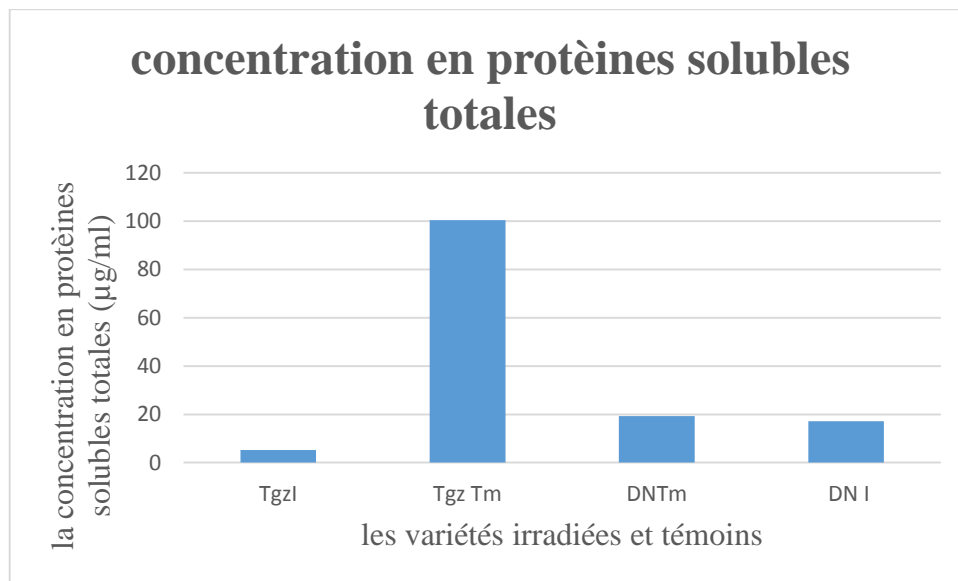


Figure n° 28 : représentation graphique de la teneur en protéines solubles totales pour les variétés irradiées et témoins

La figure n°28, montre qu'il existe des différences entre les deux variétés et leurs irradiées et que la synthèse protéique est bien active mais la teneur diffère entre les cals analysés. Les cals d'aspect compact et de couleur marron à brun sont probablement corrélées avec la baisse protéique. En effet les résultats ayant montrés le nombre le plus important en malformations et développement racinaires sans partie caulinaire ont donné des teneurs en protéines solubles totales faibles. **Zii et al, (1983)** rapportent que des microboutures d'œillet vitreuses contiennent 2 à 3 fois moins de protéines totales par gramme de matière fraîche que les pousses d'aspect normal.

Conclusion

Conclusion

Le but de cette expérimentation est de voir l'effet de l'irradiation sur le processus d'embryogenèse somatique et de l'intégrer dans le programme d'amélioration de l'espèce vis-à-vis du bayoud. Ce travail rentre dans le cadre d'un projet de recherche de coopération avec l'AIEA (Agence internationale de l'énergie atomique) et l'INRAA ayant pour objectif, l'amélioration génétique du palmier dattier vis-à-vis d'un stress biotique (*Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*) par radio-mutagenèse au Cobalt 60, pour l'obtention de mutants résistants et de bonne qualité.

Lors de notre expérimentation nous avons suivi le stade de germination des calcs embryogènes irradiés comparés aux témoins de deux variétés de palmier dattier après 8 semaines et 16 semaines de culture.

L'expérimentation a montré que le nombre de prolifération des variétés irradiées est plus faible que les témoins et diminue après 16 semaines de culture quel que soit la variété.

L'effet de l'asynchronisation des embryons est bien mis en évidence et s'explique par la différence significative de la germination des deux variétés. En fait, chez les variétés irradiées, la germination a lieu après 8 semaines seulement, mais le nombre est plus faible que chez les variétés témoins.

Le développement des embryons en plantules débute qu'à partir de 16 semaines de culture. Les embryons de la variété Tegaza irradiée ont régénérés un nombre plus élevé de plantules par rapport aux témoins. Ce nombre élevé de plantules est lié probablement à un stade avancé des embryons contrairement aux autres.

La formation de racines et de malformations a permis de ressortir l'effet négatif d'irradiation sur l'embryogenèse. Ce phénomène de malformations montre que certaines mutations obtenues affectent probablement la synthèse des protéines.

La variété Tegaza est nécrose beaucoup plus que celle de Deglet nour ce qui traduit par une couleur marron sur les cals. La couleur marron présentée par les cals de Tegaza revient à la forte synthèse des polyphénols et y cause à un moment donné la mort de ces cals.

Pour ce qui concerne les marqueurs protéiques, les variétés témoins et irradiées présente une différence à la teneur des protéines, les variétés Deglet nour témoins et irradiées ont presque la même teneur en protéine alors que la teneur en protéines chez Tegaza irradiées est inférieurs à celle de Tegaza témoins. Il existe des différences entre les deux variétés et leurs irradiées, et que la synthèse protéique est bien active mais la teneur diffère entre les cals analysés et selon aspect du cal (friable au compact).

Cette expérimentation nous a permis montré que l'irradiation a eu un effet sur le processus de régénération. Ce travail aussi de montrer que la méthodologie utilisée a permis d'obtenir des mutants. Ce travail mérite d'être continué par :

- ✓ une sélection par inoculation des plantules acclimatées.
- ✓ La confirmation de la résistance des mutants en champ naturellement infestés.
- ✓ La recherche des caractères de la qualité dattière des mutants.

Annexes

Annexe n⁰¹

Matériel utilisé dans notre expérimentation

- L'étuve
- La hotte à flux laminaire
- L'autoclave
- Balance de précision
- Appareil de pH mètre
- Boîtes de Pétri en verre ou en plastiques stériles
- Un agitateur et un barreau magnétique
- Des bocaux en verre autoclavables
- Para film
- Papier aluminium
- Spatules
- Les pinces
- Pissettes
- Eau distillée
- Distributeur du milieu
- Micropipette 10 μ l, 200 μ l, 1000 μ l
- Cocotte inox
- Réfrigérateur
- Papier stérile
- Centrifugeuse
- Machine à glace
- Spectrophotomètre
- Eppendorf
- Plaque chauffante

Annexe n⁰²

Stérilisation du matériel de culture

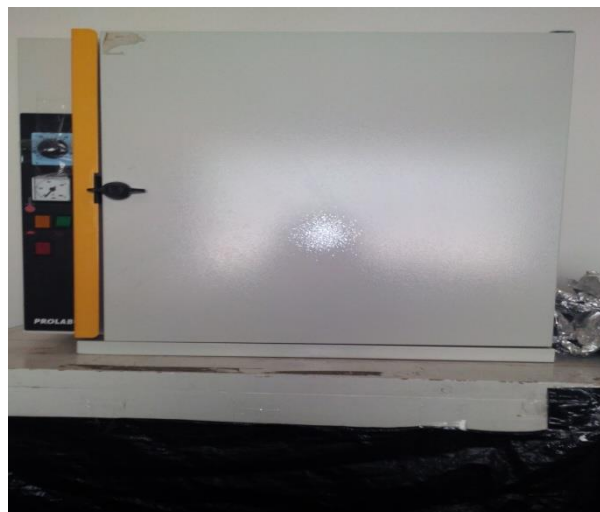


Figure n⁰ 29 : stérilisation du matériel de culture dans l'étuve



Figure n° 30 : stérilisation du matériel de culture dans L'autoclave

Annexe n°3 :

L'appareillage principal utilisé dans la préparation du milieu de culture GMN200



Ph mètre



plaque chauffante



Balance électrique



Distributeur automatique

Annexe n° 4 :

Matériels utilisés lors du repiquage



Figure n° 31 :(A) Les pinces, spatules et bistouri utilisées pour le repiquage.

(B) La hotte stérile à flux laminaire

:



Figure n° 32 : La chambre de culture

Annexe n⁰⁵ :

Matériels utilisés dans l'extraction des protéines solubles totales



Centrifugeuse



Machine à glace



Spectrophotomètre

Annexe n^o 6 :Tableau n^o 7 : Les macroéléments selon MURASHIGE et SKOOG 1962

désignation	Formule chimique	Concentration en g/L
Nitrate de potassium	KNO ₃	1.9
Chlorure de calcium	CaCl ₂ , 2H ₂ O	0.44
Sulfate de magnésium	MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.37
Phosphate monopotassique	KH ₂ PO ₄	0.17

Tableau n^o 8 : Les micro-éléments selon MURASHIGE et SKOOG 1962

désignation	Formule chimique	Concentration en mg/L
Acide borique	H ₃ BO ₃	6.2
Sulfate de manganèse	MnSO ₄ , 4H ₂ O	16.9
Sulfate de Zinc heptahydrate	ZnSO ₄ , 7H ₂ O	8.6
Chlorure de cobalt	CoCl ₂ , 6H ₂ O	0.025
Molybdate de sodium	NaMoO ₄ , 2H ₂ O	0.25
Iodure de potassium	KI	0.83
Sulfate de cuivre heptahydrate	CuSO ₄ , 5H ₂ O	0.025

Tableau n^o 9 : Fer MS

désignation	Formule chimique	CONCENTRATION g/l
Ethylène diamine tétra acétate de sodium	Na, EDTA	0.03735
Sulfate hyptahydrate	FeSO ₄ 7H ₂ O	0.02785

Tableau n^o 10 : la moyenne et écart type de la prolifération pour les variétés irradiées et témoins

	Irr DN Irr 8	Irr DN Irr 16	Tem DN Te 8	Tem DN Te 16	Irr Tgz Irr 8	Irr Tgz Irr 16	Tem Tgz Te 8	Tem Tgz Te 16
DNI 1	5	4	5	3	3	0	4	3
DNI 2	4	3	6	4	1	0	2	1
DNI 3	5	3	5	5	2	0	5	4
DNI 4	5	5	5	4	4	4	6	3
DNI 5	5	3	4	3	4	2	0	0
DNI 6	4	3	5	3	1	0	3	2
DNI 7	2	3	5	3	3	1	5	3
DNI 8	5	4	4	4	6	4	2	1
DNI 9	4	4	5	4	1	1	3	0
DNI 10	4	3	5	5	2	2	0	1
Moy	4,3	3,5	4,9	3,8	2,7	1,4	3	1,8
ET	0,95	0,71	0,57	0,79	1,64	1,58	2,05	1,40

DN Irr 8 = Deglet nour irradiée après 8 semaines de culture ; DN Irr 16 = Deglet nour irradiée après 16 semaines de culture.

DN Te 8 = Deglet nour témoin après 8 semaines de culture ; DN Te 16 = Deglet nour témoin après 16 semaines de culture.

Tgz Irr 8 = Tegaza irradiée après 8 semaines de culture ; **Tgz Irr 16** = Tegaza irradiée après 16 semaines de culture.

Tgz Te 8 = Tegaza témoin après 8 semaines de culture ; **Tgz Te 16** = Tegaza témoin après 16 semaines de culture.

Moy = Moyene ; **ET** = Ecart type.

Tableau n° 11 : Analyse de la variance pour la prolifération

Source de la variance	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	100,35	7	14,33571429	8,378014842	1,86916 ^E -07	2,139655516
A l'intérieur des groupes	123,2	72	1,711111111			
Total	223,55	79				

F > F critique **Différence significative**

Tableau n° 12 : la moyenne et écart type de la germination pour les variétés irradiées et témoins

	Irr DN Irr 8	Irr DN Irr 16	Tem DN Te 8	Tem DN Te 16	Irr Tgz Irr 8	Irr Tgz Irr 16	Tem Tgz Te 8	Tem Tgz Te 16
DNI 1	0	1	0	2	1	3	0	1
DNI 2	0	0	0	2	2	2	1	2
DNI 3	0	0	0	0	0	1	0	0
DNI 4	0	0	0	0	0	0	0	3
DNI 5	0	1	0	0	0	0	1	1
DNI 6	0	0	0	2	1	1	0	1
DNI 7	3	1	0	3	0	0	0	0
DNI 8	0	0	0	0	0	1	2	1
DNI 9	0	0	0	1	0	0	1	1
DNI 10	2	1	0	0	0	0	0	0
Moy	0,5	0,4	0	1	0,4	0,8	0,5	1
ET	1,08	0,52	0,00	1,15	0,70	1,03	0,71	0,94

DN Irr 8 = Deglet nour irradiée après 8 semaines de culture ; **DN Irr 16** = Deglet nour irradiée après 16 semaines de culture.

DN Te 8 = Deglet nour témoin après 8 semaines de culture ; **DN Te 16** = Deglet nour témoin après 16 semaines de culture.

Tgz Irr 8 = Tegaza irradiée après 8 semaines de culture ; **Tgz Irr 16** = Tegaza irradiée après 16 semaines de culture.

Tgz Te 8 = Tegaza témoin après 8 semaines de culture ; **Tgz Te 16** = Tegaza témoin après 16 semaines de culture.

Moy = Moyene ; **ET** = Ecart type.

Tableau n°13 : Analyse de la variance germination

Source de la variance	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	8,15	7	1,164285714	1,630906059	0,140525395	2,139655516
A l'intérieur des groupes	51,4	72	0,713888889			
Total	59,55	79				

F < F critique **Différence non significative**

Tableau n°14 : la moyenne et écart type de plantule pour les variétés irradiées et témoins

	Irr DN Irr 8	Irr DN Irr 16	Tem DN Te 8	Tem DN Te 16	Irr Tgz Irr 8	Irr Tgz Irr 16	Tem Tgz Te 8	Tem Tgz Te 16
DNI 1	0	0	0	0	0	1	0	0
DNI 2	0	0	0	0	0	2	0	1
DNI 3	0	0	0	0	0	0	0	0
DNI 4	0	0	0	0	0	0	0	0
DNI 5	0	1	0	0	0	0	0	0
DNI 6	0	0	0	0	0	1	0	0
DNI 7	0	2	0	0	0	2	0	0
DNI 8	0	0	0	0	0	0	0	3
DNI 9	0	0	0	0	0	0	0	0
DNI 10	0	0	0	0	0	0	0	0
Moy	0	0,3	0	0	0	0,6	0	0,4
ET	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,84	0,00	0,97

DN Irr 8 = Deglet nour irradiée après 8 semaines de culture ; **DN Irr 16** = Deglet nour irradiée après 16 semaines de culture.

DN Te 8 = Deglet nour témoin après 8 semaines de culture ; **DN Te 16** = Deglet nour témoin après 16 semaines de culture.

Tgz Irr 8 = Tegaza irradiée après 8 semaines de culture ; **Tgz Irr 16** = Tegaza irradiée après 16 semaines de culture.

Tgz Te 8 = Tegaza témoin après 8 semaines de culture ; **Tgz Te 16** = Tegaza témoin après 16 semaines de culture.

Moy = Moyene ; **ET** = Ecart type.

Tableau n°15 : la moyenne et écart type de la formation des racines pour les variétés irradiées et témoins

	Irr DN Irr 8	Irr DN Irr 16	Tem DN Te 8	Tem DN Te 16	Irr Tgz Irr 8	Irr Tgz Irr 16	Tem Tgz Te 8	Tem Tgz Te 16
DNI 1	0	0	0	0	2	2	1	0
DNI 2	0	1	0	0	4	4	4	3
DNI 3	0	0	0	0	0	1	0	1
DNI 4	0	0	0	0	1	0	0	0
DNI 5	0	1	0	0	2	3	1	1
DNI 6	0	0	0	1	2	1	3	3
DNI 7	4	0	0	0	2	1	0	3
DNI 8	0	1	0	0	0	1	1	2
DNI 9	0	0	0	0	2	3	1	1
DNI 10	0	2	0	0	0	1	0	1
Moy	0,4	0,5	0	0,1	1,5	1,7	1,1	1,5
ET	1,26	0,71	0,00	0,32	1,27	1,25	1,37	1,18

DN Irr 8 = Deglet nour irradiée après 8 semaines de culture ; **DN Irr 16** = Deglet nour irradiée après 16 semaines de culture.

DN Te 8 = Deglet nour témoin après 8 semaines de culture ; **DN Te 16** = Deglet nour témoin après 16 semaines de culture.

Tgz Irr 8 = Tegaza irradiée après 8 semaines de culture ; **Tgz Irr 16** = Tegaza irradiée après 16 semaines de culture.

Tgz Te 8 = Tegaza témoin après 8 semaines de culture ; **Tgz Te 16** = Tegaza témoin après 16 semaines de culture.

Moy = Moyene ; **ET** = Ecart type.

Tableau n°16 : la moyenne et écart type des malformations pour les variétés irradiées et témoins

	Irr DN Irr 8	Irr DN Irr 16	Tem DN Te 8	Tem DN Te 16	Irr Tgz Irr 8	Irr Tgz Irr 16	Tem Tgz Te 8	Tem Tgz Te 16
DNI 1	0	0	0	0	3	3	0	1
DNI 2	0	1	0	1	2	1	6	4
DNI 3	0	2	0	0	2	2	1	1
DNI 4	0	0	0	0	3	5	0	0
DNI 5	2	3	0	0	2	3	1	1
DNI 6	0	1	0	1	3	2	1	2
DNI 7	1	1	0	0	2	3	1	1
DNI 8	0	1	1	0	0	2	3	4
DNI 9	0	0	0	0	5	4	1	1
DNI 10	1	0	0	0	1	1	0	0
Moy	0,4	0,9	0,1	0,2	2,3	2,6	1,4	1,5
ET	0,70	0,99	0,32	0,42	1,34	1,26	1,84	1,43

DN Irr 8 = Deglet nour irradiée après 8 semaines de culture ; **DN Irr 16** = Deglet nour irradiée après 16 semaines de culture.

DN Te 8 = Deglet nour témoin après 8 semaines de culture ; **DN Te 16** = Deglet nour témoin après 16 semaines de culture.

Tgz Irr 8 = Tegaza irradiée après 8 semaines de culture ; **Tgz Irr 16** = Tegaza irradiée après 16 semaines de culture.

Tgz Te 8 = Tegaza témoin après 8 semaines de culture ; **Tgz Te 16** = Tegaza témoin après 16 semaines de culture.

Moy = Moyene ; **ET** = Ecart type.

Tableau n°17 : Analyse de la variance pour les malformations

Source de la variance	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	62,35	7	8,907142857	6,736494598	3,82905 ^E -06	2,139655516
A l'intérieur des groupes	95,2	72	1,322222222			
Total	157,55	79				

F > F critique Différence significative

Tableau n°18 : la moyenne et écart type des nécroses pour les variétés irradiées et témoins

	Irr DN Irr 8	Irr DN Irr 16	Tem DN Te 8	Tem DN Te 16	Irr Tgz Irr 8	Irr Tgz Irr 16	Tem Tgz Te 8	Tem Tgz Te 16
DNI 1	0	1	0	0	5	2	5	2
DNI 2	0	0	0	0	5	4	5	4
DNI 3	0	1	0	0	5	3	5	3
DNI 4	1	0	0	0	5	1	5	1
DNI 5	0	0	0	0	4	1	4	1
DNI 6	0	0	0	0	4	3	4	3
DNI 7	3	0	0	0	3	3	3	3
DNI 8	0	0	0	0	5	3	5	3
DNI 9	1	2	0	0	5	1	5	1
DNI 10	0	0	0	0	5	3	5	3
Moy	0,5	0,4	0	0	4,6	2,4	4,6	2,4
ET	0,97	0,70	0,00	0,00	0,70	1,07	0,70	1,07

DN Irr 8 = Deglet nour irradiée après 8 semaines de culture ; **DN Irr 16** = Deglet nour irradiée après 16 semaines de culture.

DN Te 8 = Deglet nour témoin après 8 semaines de culture ; **DN Te 16** = Deglet nour témoin après 16 semaines de culture.

Tgz Irr 8 = Tegaza irradiée après 8 semaines de culture ; **Tgz Irr 16** = Tegaza irradiée après 16 semaines de culture.

Tgz Te 8 = Tegaza témoin après 8 semaines de culture ; **Tgz Te 16** = Tegaza témoin après 16 semaines de culture.

Moy = Moyene ; **ET** = Ecart type.

*Références
bibliographiques*

Référence bibliographique

- **Abed. F, 2012.** Embryogenèse somatique chez quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenixdactylifera L*) de trois régions du sud et évaluation de la conformité par les systèmes enzymatiques (peroxydases). Thèse de Magister ENSAE. Alger.
- **F.Abed, D. Yatta, B. Amara, M.S. Yakhou, F. Benhafsi2014.** Somatic Embryogenesis from offshoot of different cultivars of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) of three regions of southern Algerian and Usefulness of stirred liquid medium”.EbookBiotechnology& conservation of species from arid regions (Nova publisher inc 2014
- **Abed F., Saka H., Amara B., et Kermiche A., 1999.** Effet de différentes doses d’irradiation de Cobalt 60 sur les cals embryogènes de DegletNour (*Phoenixdactylifera L.*) revue semestrielle N°5 de l’INRAA p 76.
- **Anjarne M., Bougerfaoui M. et Abahmane L. 2005,** Les techniques de micropropagation du palmier dattier : Expérience de l’INRA-Maroc Actes du Symposium International sur le Développement Durable des Systèmes Oasiens du 08 au 10 mars 2005 Erfoud, Maroc - B. Boulanouar& C. Kradi (Eds.) .L’INRA-Maroc, pdf, 8p.
- **Arraudeau M, 1998.** Mutagenèse et utilisation de radioéléments en amélioration variétale du riz. [http://madarevue.recherches.gov.mg/revues/pbfxfiles/terre-mg12\(15\). Pdf](http://madarevue.recherches.gov.mg/revues/pbfxfiles/terre-mg12(15).Pdf)
- **Azria. D, Dubois. J B, Novembre 2006.** Item 141 Radiothérapie : Notions radiobiologiques ; Principaux effets secondaires Département de Radiothérapie, INSERM EMI, 0227 CRLC Val d’Aurelle, Faculté de médecine, Montpellier. PDF 11p.
- **Baochun L.I., Caswell K., Leung N., Chibbar R.N., 2003.** Wheat (*TriticumaestivumL.*) somatic embryogenesis from isolated scutellum: days post anthesis, days of spike storage, and sucrose concentration affect efficiency. Proquest. 39(1) :4-20p.

- **Ben abdallah. A, 1990.** La phoeniciculture. Option Méditerranéennes CIHEAM-IAMM, SérieA, n°11, pp : 105-120 ;
- **Boussaha A ; 1988.** Amélioration des céréales par radio mutagènes
- **Brochard P, Dubost D.,1970.** Progression du Bayoud dans la palmeraie d'In-Salah (Tidikelt,Algérie). Al Awamia 35 : 143-153.
- **Bulit, J., Louvet, J., Bouhot, D., et Toutain, G., 1967.** Travaux sur les Fusarioses. I : Travaux sur le Bayoud, Fusariose Vasculaire du Palmier Dattier en Afrique du Nord. Ann. Epiphytes.
- **BuscarletL. 1967.** l'énergie nucléaire au service de l'agriculture, Ecole national supérieur agronomique de l'université Madagascar. Pp 202-203.
- **Bustamante R., 1999.** Somatic Embryogenesis in *Hordrumvulgare*(Barley) and *Triticumaestivum*(wheat). Biologie 3410p.
- **Buelguedj, M., 2007.** Evaluation du sous-secteur des dattes en Algérie.,INRAA El-Harrach.
- **Chakroune, K., M. Bouakka, R. Lahlali, A. Hakkou, 2008.** Suppressive Effect of Mature Compost of Date Palm By-products on *Fusariumoxysporumf.sp. albedinis*. Plant Pathology Journal.
- **Dagnelie, P., 2006.** Statistique théorique et appliquée. Interférence statistique à une et à deux dimensions. Deuxième Edition. De boeck Ed. 734p.
- **Datta M.M., Mukherjee P., Ghosh B. &Jha T.B., 2007.** *In vitro* clonal propagation of biodiesel plant (*Jatropha curcas*L.). *Curr. Sci.*, 93(10), 1438-1442.
- **Deore A.J. & Johnson T.S., 2008.** High frequency plant regeneration from leaf-disc cultures of *Jatropha curcas*L.: an important biodiesel crop. *Plant Biotechnol.Rep.*, 2, 7-11p.
- **Djerbi, M., 1990.** Méthodes de diagnostic du Bayoud. In : Compte rendu de l'atelier sur le diagnostic et l'éradication du Bayoud. Ghardaïa 3-7 Juin 1989. Algérie (sous la presse).
- **Djerbi M, El Ghorfi A, El IdrissiAmmari MA, 1985.** Etude du comportement du henné *Lawsonia inermis* et de la luzerne *Medicago sativa* et quelques espèces de palmacées vis-à-vis du *Fusariumoxysporumf.sp. albedinis*, agent causal du Bayoud. Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, 58 : 1-11.

- **Dubost D., 1972.** The Bayoud disease in Algeria, history and diagnosis. In: Proceedings of the First International Seminar and Workshop on Bayoud, Algiers, Algeria, pp. 83-92.
- **El hadrami. I, Al Djaarari. S, Daayf. F, SAKA. 1997.** Les biotechnologies végétales : Intégration chez le palmier dattier (*phoenix dactylifera L.*) pivot de l'agriculture oasienne, cas du Maroc. Sixième journée scientifique du réseau biotechnologies végétale. AUEPLF, UREF, Orsay, p23-27.
- **El Hadrami I, 1993.** Rapport de synthèse de l'atelier "Culture in vitro du Palmier dattier". In : Ferry M. (ed.), Greiner D. (ed.). *Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens*. Zaragoza : CIHEAM, 167-168 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens ; n. 28)
- **Elhadrami, I., 2011.** Breeding date palm. Univ. Marrakech. 191-195 pp.
- **El Hadrami, A., El Idrissi-Tourane, A., El Hassni, M., Daayf, F., et El Hadrami, I., 2005.** Toxin-based in-vitro selection and its potential application to date palm for resistance to the bayoud *Fusarium* wilt. *Plant Biology and Pathology*, C. R. Biologies, 328. 732–744.
- **El Modafar C., Clériver A., Macheix J.J., 1996.** Flavan accumulation in stems *Platanus acerifolia* seedling inoculated with *Ceratocystis fimbriata*
- **Fernandez, D., Lour, M., Ouinten, M., Tantaoui, A., et Geiger, J.P., 1995.** Le Bayoud du palmier dattier. Une maladie qui menace la phoeniciculture. *Phytoma*. La défense des végétaux. n° 469.
- **Fki L, 2005.** Application des suspensions cellulaires embryogènes au clonage et à l'amélioration *in vitro* du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*). Thèse de doctorat en sciences biologiques. Faculté de science de Sfax.
- **Fki L, Masmoudi F, Kriaâ W, Mahjoub A, Sghaier A, Mzid R, Mliki A, Rival A, Drira N, 2011.** Date Palm Micropropagation via Somatic Embryogenesis. PDF, 47-48p.
- **Griffiths A.J.F, Gellart W.M, Miller J.H, Lemontin R.C. 2001-**Analyse génétique moderne. Ed. De Boeck, université, Paris, 676p.
- **Hodel, D.R., Johnson, D.V., 2007.** Imported and American Varieties of Dates in the United States. University of California, Agriculture and Natural Resources, 112 p.
- **HENDERSON, A., 2006.** Traditional morphometrics in plant systematics and its role in palm systematics. *Bot. J. Linn. Soc.* 151, 103–111.

- **Jain S.M., 2011** .Radiation-Induced Mutations for Date Palm Improvement, Dat palm biotechnologies, Springer, Dordrecht 762 ;271-285.
- **Kirkby J.M et Mengel K.E., 1979**. Plant nutrition. Eds. McMillan. XY London-530p.
- **Kalimuthu K., Paulsamy S., Senthilkumar R. & Sathya M., 2007**. *In vitro* propagation of the biodiesel plant *Jatropha curcas* L. *Plant Tissue Cult. Biotechnol.*, 17(2), 137-147p.
- **Louvet, J., 1991**. Que devons-nous faire pour lutter contre le Bayoud. In : Physiologie des Arbres et Arbustes en zones arides et semi-arides (Ed. by A. Riedaker, E. Dreyer, C. Pafadnam, H. Joly and G. Bory) pp 337-346. Groupe d'étude de l'arbre, Jhon Libbey Eurotext, Paris, France.
- **Louvet J, Toutain G. 1973**. Recherches sur les fusarioses. VIII-Nouvelles observations sur la fusariose du palmier dattier et précisions concernant la lutte. *Ann Phytopathol*, 5:35-52.
- **Lheritier PH, 1975** .GENETIQUE .Ed .masson etcite, paris, pp 135-158. Matallah M.A.A., 2004. Contribution à l'étude de la conservation des dates variété Deglet-Nour : Isotherme d'adsorption et de désorption. Mémoire d'Ingénieur agronome, INA. El-Harrach, 79 p.
- **Messiaen, C.M., et Lafon, R., 1970**. Les maladies des plantes maraîchères. Edit. INRA. Paris. 431 p.
- **Montoro P, Etienne H, Carron M.P et Nougarede A, 1992**. Incidence des cytokinines sur l'induction de l'embryonèse et la qualité des embryons somatiques chez *Hevea brasiliensis* Mull. Arg. C.R. Acad. Sci. Paris. T. 315, Série III, pp : 567-574.
- **Munier, P., 1973**. Le palmier dattier. Edit. Maison neuve et Larose, Paris. ISBN 2706805633. 221 p
- **Novak F.J., Dolezelova, Nesticky M., Piovarci A., 1983**. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Zea mays* L. *Maydica* XXVIII: 381-390.
- **Novak F.J. et Brunner H., 1992**. Sélection des plantes : Mutations induites pour de meilleures récoltes. AIEA BULLETIN, 4/1992, PDF, 33P
- **OEPP/EPPO, 2003**. *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Bulletin, 33: 265-269.
- **Ouinten M., 1996** –Diversité et structures génétiques des populations algériennes de *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Albedinis*, agent de la fusariose vasculaire (Bayoud) du

palmier dattier. Thèse Doct., Université Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 170 p.

- **Ozbay, N. et Newman, S.E., 2004.** Fusarium crown and root rot of tomato and control methods. *Plant. Pathol. J.* 3, p. 9-18.
- **Peyron G., 2000.** Cultiver le palmier dattier. CIRAD- Montpellier-France, 110 p.
- **Rueb S., Leneman M., Schilperoort R.A., Hensgen S L.A.M., 1993.** Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus induced on mature rice embryos (*Oryza sativa* L.). *Plant cell tissue and organ culture.* 36 : 259-264p.
- **Purkayastha J. et al., 2010.** Efficient *in vitro* plant regeneration from shoot apices and gene transfer by particle bombardment in *Jatropha curcas*. *Biol. Plant.*, 54(1), 13-20p.
- **Saaidi M. 1979.** Contribution à la lutte contre le Bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thesis, University of Dijon, France.
- **Sarika S. & Meenakshi B., 2009.** Algal filtrate: a low cost substitute to synthetic growth regulators for direct organogenesis of embryo culture in *Jatropha curcas* (Ratanjyot). *Acta Physiol. Plant.*, 31, 1205-1212p.
- **Saka H., 1997.** Caractérisation moléculaire des cals embryogènes de deux cultivars de palmier dattier Degletnour et Takerbuchet. Sixième Journée Scientifique du Réseau Biotechnologies Végétales. AUEPLF, UREF, Prsay, P 463.
- **Saka H., Abed F., Kermiche B., 1997.** Embryogénèse somatique du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). l'induction de la callogenèse à partir d'organes de rejets de quelques cultivars. Recherche Agronomique, 10. P1-8.(Ratanjyot). *Acta Physiol. Plant.*, 31, 1205-1212p.
- **Sedra My. H., 2001.** (INRA Maroc / OADA)
- **Sedra, M. H., Lashermes, P., Trouslot P., Combes M C., Hamon S., 1998.**

Identification and diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) varieties from Morocco using RAPD markers. *Euphytica* 1998, 103 PP.75-82.

- **Sihachakr D., Cavalcante-alves J.M., Tizroutine. S. Allot M, Mussio I., Servaies A., Nzogne D., Ducreux G., 1994.** Embryogénèse somatique chez la patate douce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) : Caractérisation et régénération des plantes. Ed. AUPELF-UREF. John LibbeyEurotext. 251-261p.
- **Sujatha M. & Mukta N., 1996.** Morphogenesis and plant regeneration from tissue culture of *Jatropha curcas*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 44, 135-141p.

- **Toutain G, Louvet J. 1974.** Lutte contre le Bayoud. IV. Orientations de la lutte au Maroc. *AlAwamia*, 53: 114-162.
- **Trigiano R.N, Conger B. V, 1987.**Régulation of growth and somatic embryogenesis by praline and serine in suspension cultures of *Dactylisglomerata*. *Journal of plant physiology* 130: 49-55p.
- **Yatta D. 2007.** Embryogenèse somatique du palmier dattier et étude de la conformité génétique des vitroplants par marqueurs moléculaires. Thèse de Magister USTHB. Alger.
- **Yatta D., F. Abed, B. Amara, M. S. Yakhou and F. Benhafsı 2014.** The genomic DNA structure in somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix Dactylifera* L.) by flow cytometric, RAPD and AFLP analysis. e-Book *Biotechnology & conservation of species from arid regions* (Nova publisher inc 2014),p 241- 252
- **Zaid, A., 2002.** Date Palm Cultivation. FAO. Plant Production and Protection Paper. 156 Rev.1. 110p.
- **Zaid A.,2003.** Date palm culture in the UAE: Situation and Future Challenge.Zayed Centre forCoordination and Follow-up, Abu Dhabi, 1-26.
- **Zdenko Regel., 1987.**Embryogenic callus induction and plant regeneration from cultured *Hordeumvulgare*mature embryos. 25(1) :43-48p.