

Rapport de synthèse de l'atelier "Culture in vitro du Palmier dattier"

El Hadrami I.

in

Ferry M. (ed.), Greiner D. (ed.).
Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens

Zaragoza : CIHEAM
Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 28

1993
pages 167-168

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=96605887>

To cite this article / Pour citer cet article

El Hadrami I. **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, 1993. p. 167-168 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 28)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

Rapport de synthèse de l'atelier "Culture *in vitro* du Palmier dattier"

I. EL HADRAMI
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
FACULTE DES SCIENCES - SEMLALIA
LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE VEGETALE
B.P. S 15
40000 MARRAKECH
MAROC

L'atelier culture *in vitro* a réuni de nombreux chercheurs et participants aux Journées Internationales sur le Palmier dattier s'intéressant de près ou de loin à la multiplication du dattier par les techniques *in vitro*.

Position des problèmes et objectifs des travaux présentés

Les travaux présentés lors de cette session mettent l'accent sur l'intérêt de la culture *in vitro* pour répondre à l'importante demande de plants de palmier dattier sélectionnés. Les besoins sont urgents et élevés car les palmeraies doivent être rajeunies avec du matériel végétal de qualité et, au moins au Maroc et dans l'ouest algérien, avec des variétés résistantes au Bayoud.

Méthodes utilisées et contraintes

Deux méthodes de micropropagation du Palmier dattier sont actuellement en cours de recherche et/ou de développement ; il s'agit de l'organogenèse qui repose sur les capacités de bourgeonnement de plusieurs types d'explants (Bouguedoura) : bourgeons axillaires et zones méristématiques (Ruipérez *et al.* ; Bouguerfaoui *et al.*) de la base des jeunes feuilles de rejet, jeunes inflorescences (Drira *et al.*) et bourgeons axillaires indifférenciés de palmiers adultes et de l'embryogenèse somatique qui utilise la différenciation et la dédifférenciation cellulaires pour la formation d'embryons à partir de cellules somatiques (Navarro *et al.* ; El Hadrami *et al.* ; Ben-Bassat *et al.* ; Chabane *et al.* ; Masmoudi *et al.*).

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

- (i) De la lenteur dans la réactivité des explants.
- (ii) Des contaminations endophytiques.
- (iii) Des coefficients de multiplication faibles et aléatoires chez certains cultivars.
- (iv) Du brunissement des tissus et des milieux.

(v) De l'enracinement précoce des bourgeons et de la vitrification des tissus.

(vi) Des pertes à l'acclimatation.

L'addition et l'interaction de ces facteurs conduisent actuellement à un déficit dans la production de vitroplants particulièrement par la technique d'organogenèse. Cette dernière, assurant une certaine authenticité variétale, est la seule technique utilisée pour la micropropagation du dattier au Maroc. Elle a conduit à un début de repeuplement des palmeraies marocaines et l'on compte aujourd'hui 140 000 vitropieds issus d'une vingtaine de génotypes (Anjarne *et al.*).

Actuellement, quelques équipes de recherche se sont penchées sur l'étude des mécanismes biochimiques et moléculaires dans le but de comprendre et de maîtriser la micropropagation du dattier (Baaziz *et al.* ; El Hadrami *et al.* ; Jaiti *et al.*). La stabilité génétique du matériel végétal multiplié a été discutée (Al-Ghamdi *et al.*, Com.1 ; Al-Ghamdi *et al.*, Com. 2 ; Reuveni ; Delmas ; Ferry *et al.*) ; et l'on relève ici l'insuffisance de tests et de suivi au champ de ce matériel.

Principales recommandations

Les principales recommandations discutées par le groupe résident dans :

(i) L'intensification des efforts et des recherches pour la levée des contraintes limitant la multiplication du dattier par la *technique d'organogenèse* qui, en principe et selon les travaux effectués dans ce domaine, permet une *authenticité variétale*.

(ii) Le développement de la recherche pour la maîtrise de la technique d'embryogenèse somatique, soit pour produire des plants conformes soit pour créer des "variants".

(iii) Le développement de moyens biochimiques et moléculaires et de tests rapides pour la caractérisation et l'évaluation précoce de la stabilité génétique du matériel végétal multiplié *in vitro*. Il convient également de faire un suivi sur le terrain pour l'étude du comportement de ce matériel.

(iv) La création d'un réseau disposant de ressources financières importantes pour permettre la multiplication des rencontres et l'intensification de la recherche et des échanges de données scientifiques.

Résumés des communications de cet atelier

Field evaluation of Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) male cultivars produced through tissue culture

Al-Ghamdi A.S.*, Al-Maarri K.*, Al-Kahtani M.S.*

A field study to evaluate two male date palm cultivars ('Jarvis' and 'Fard'), produced through tissue culture, was conducted in the Orchard of the Date Palm Research Center, Al-Hassa, Saudi Arabia during the 1993 flowering season. Evaluation involved morphological traits of the reproductive traits of the palm i.e. spathe (number, length, width, and weight), spikes (number, length and weight), flowers/spike, flowers/spathe, length of flower head and weight of inflorescence axis as well as pollen characteristics (weight of pollen/spike, and pollen viability). The results showed significant differences between cultivars in most of these traits. Generally, the florescence and pollen qualities were excellent with no signs of mutation or abnormalities. The results also revealed that fruit productivity and fruit physical properties were influenced by both pollen sources and female cultivars. From the data of this study, we concluded that tissue cultured 'Fard' and 'Jarvis' date palm male cultivars have the potential to produce high fruit set percentage and good quality fruits when their pollen is used to pollinate female date palm.

*King Faisal University, Date Palm Research Center, P.O. Box 400, 31982 Hofuf, Kingdom of SAUDI ARABIA

Survival and adaptability of tissue culture plantlets in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) germplasm bank in King Faisal University, Saudi Arabia

Al-Ghamdi A.S.*, Al-Kahtani M.S.*

Two hundred and eighty one plantlets representing eighteen different cultivars produced through tissue culture and obtained from different laboratories around the world were transplanted in the field of the date palm germplasm bank, King Faisal University, Saudi Arabia. Transplanting was performed during the 1986, 1987, 1988 and 1989 growing seasons. Normal cultural practices were applied before and after planting in the field. Annual survival rate for each cultivar was determined. Genotypic differences and environmental factors were considered for evaluation to determine their effects on survival and adaptability of newly planted date palm plantlets. The results revealed high survival rate and very minor differences were detected between cultivars, sources of plantlets, and seasons of transplanting. The high survival rate may be attributed to the good root system that developed before transplanting and to their gradual adaptation to the area.

*King Faisal University, Date Palm Research Center, P.O. Box 400, 31982 Hofuf, Kingdom of SAUDI ARABIA

Production de vitroplants de palmier dattier par la technique d'organogénèse : L'expérience marocaine

Anjarne M.*, Bougerfaoui M.*, Aitchitt M.*, Cheikh R.*

Les recherches entamées par l'INRA-Maroc en matière de micropropagation du palmier dattier par organogénèse *in vitro* ont contribué à l'amélioration des itinéraires techniques utilisés dans le processus de régénération de plantules. Le transfert de ces résultats à l'échelle commerciale permet actuellement la production de milliers de vitroplants appartenant à différentes variétés et clones de palmier dattier.

*INRA Marrakech, Centre Régional du Haouz Présahara, Laboratoire de Physiologie Végétale, B.P. 533, 40000 Marrakech, MAROC

Apport des marqueurs biochimiques et moléculaires dans la micropropagation du Palmier dattier

Baaziz M.*, Brakez Z.*, Bendiab K.*, Aissam F.***, El Hadrami I.***

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une plante pérenne ayant une croissance lente et dont la multiplication est traditionnellement assurée par plantation de rejets produits à des effectifs très limités. La multiplication par culture *in vitro* reste une biotechnologie permettant une micropropagation rapide de la plante. La culture des tissus par voie d'embryogénèse somatique donne naissance chez le palmier

dattier, à trois types de cals, appelés : cal racinaire, cal succulent et cal friable. Seul le dernier type de cal est embryogène, permettant la régénération de plants de palmier dattier. Le cal friable embryogène peut être caractérisé, précocement, par plusieurs polypeptides, identifiés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE). Ainsi, les polypeptides de poids moléculaires 27 500 et 11 500 sont plus représentés dans les cultures embryogènes. Aussi, le cal régénérant des plants par embryogenèse somatique est identifié par un taux élevé en peroxydases montrant, en plus, des isoformes caractéristiques. L'utilisation de ces marqueurs dans la sélection précoce des cals embryogènes sera d'un grand apport dans l'économie des cultures et de l'espace. Le succès de la micropropagation du palmier dattier reste, également, lié à la conformité des vitroplants produits. Dans ce cas, l'analyse électrophorétique de 3 enzymes, constituées des endopeptidases, estérases et glutamate oxaloacétate transaminase a montré que la stabilité des phénotypes électrophorétiques des différents plants est "génotype-dépendante". La stabilité des phénotypes électrophorétiques est en faveur d'une conformité génétique des vitroplants.

*Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences de Semlalia, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire des Plantes, B.P. S 15, Marrakech, MAROC

**INRA-Marrakech, Centre Régional du Haouz Présahara, B.P. 533, Marrakech, MAROC

Plant regeneration from cultured immature inflorescences of Date palm obtained from mature trees *in situ*

Ben-Bassat D.*, Bernstein Z.*, Israeli Y.*

Immature inflorescences were obtained from mature date palm trees *in situ*. Although suffering an initial mechanical damage, the donor trees survived and resumed growth. The inflorescences were cultured and the formation of somatic embryos was induced. The regenerated plants were planted in the field for further observations. Inflorescences 10 to 120 mm long, with spikelets 2 to 40 mm long were successfully cultured. These were found in the axil of the 16th to 18th opened leaf, during the last week of December up to the end of January. This method may be used for the *in vitro* propagation of mature, selected date palm trees.

*Regional Centre for Agricultural Research, Zemach 15132, ISRAEL

Connaissances actuelles sur la biologie du palmier dattier, *Phoenix dactylifera* L.

Bouguedoura N.*

Plusieurs phases de développement caractérisent le palmier dattier dont l'axe orthotrope se construit grâce à l'activité continue du méristème apical et d'un méristème épaisseur primaire de type diffus. Chacune des phases est marquée par la production de bourgeons axillaires de type donné.

*Unité de Recherche sur les Zones Arides, B.P. 119, 16000 Alger-Gare, ALGERIE

Multiplication *in vitro* du Palmier dattier par la technique d'organogénèse

Bougerfaoui M.*, Anjarne M.*, Cheikh R.*, AitChitt M.*

La micropropagation du palmier dattier par la technique d'organogénèse s'adresse aux potentialités méristématiques préexistantes chez les explants mis en culture et qui permettent la néoformation directe de bourgeons. La régénération de plantules par cette technique comprend différentes étapes, allant de l'initiation de bourgeons à l'obtention de plantules enracinées.

*INRA-Marrakech, Centre Régional du Haouz Présahara, Laboratoire de Physiologie Végétale, B.P. 533, 40000 Marrakech, MAROC

Etude des aptitudes morphogénétiques de divers explants des rejets du Palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. chez deux cultivars 'Deglet Nour' et 'Takerbucht' pour induire une embryogénèse somatique

Chabane D.*, Yaïci K.*, Bouguedoura N.*

Les diverses réactions morphogénétiques obtenues par culture *in vitro* de fragments d'organes de palmier dattier dépendent de la nature de l'explant et de la composition du milieu de culture. Généralement, une bonne callogenèse et une forte activité embryogène des explants sont obtenues à partir des fragments d'apex cultivés sur le milieu contenant 2 mg l⁻¹ de 2,4 D et 3 mg l⁻¹ d'IPA. De plus, une organogénèse directe par la formation de racines à partir des fragments d'apex et de feuilles est notée sur le milieu contenant 100 mg l⁻¹ de 2,4 D et 300 mg l⁻¹ d'IPA.

De même, la formation et le développement de bourgeons sont obtenus à partir de bourgeons végétatifs et de fragments d'apex cultivés sur le milieu contenant 2 mg l⁻¹ de 2,4 D et 3 mg l⁻¹ d'IPA.

*Unité de Recherche sur les Zones Arides, B.P. 119, 16000 Alger-Gare, ALGERIE

Etat comparatif d'adaptation *in vivo* des palmiers, *Canariensis* / *Dactylifera*

Delmas J.*

Des mesures sur la croissance comparée de *Phoenix canariensis* et de *Phoenix dactylifera* obtenus par culture *in vitro* durant la phase d'acclimatation (24 à 25 mois) indiquent que la croissance de *P. canariensis* est supérieure de 50% à celle de *P. dactylifera*.

*Le Hameau St Roch, Rte de la Baronne, 06610 La Gaude, FRANCE

Aptitudes organogènes des organes végétatifs et floraux du Palmier dattier en culture *in vitro*

Drira N.*, Masmoudi R.*, Meziou B.*

Les explants de nature végétative ou inflorescentielle du palmier dattier, prélevés à des stades précis de leur développement, et soumis en condition de culture *in vitro* à l'influence de divers facteurs exogènes, expriment, tant au plan morphogénétique que physiologique, un large registre de potentialités si bien que de nombreuses modalités de régénération de plantes peuvent avoir lieu depuis le simple microbouturage des bourgeons axillaires jusqu'à la réversion des méristèmes floraux vers un fonctionnement de type végétatif donnant lieu à des plantes présentant le minimum de risque de ne pas être conformes à la plante mère. De même, les processus de caulogenèse et d'embryogenèse somatique directe permettent de procurer le maximum de chances de reproduction conforme des structures néoformées, alors qu'à travers une callogenèse intense ou discrète, ils ouvrent la voie à une variabilité contrôlée.

*Faculté des Sciences de Sfax, Laboratoire de Physiologie Végétale, 3038 Sfax, TUNISIE

L'embryogenèse somatique chez *Phoenix dactylifera* L. : importance des composés phénoliques dans le brunissement et l'acquisition des potentialités embryogènes

El Hadrami I.*, Baaziz M.** , Cheikh R.***, Coumans M.****, Macheix J.J.*****

Le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) peut être considéré actuellement comme un système relativement récalcitrant vis-à-vis de l'embryogenèse somatique. Le brunissement est l'un des facteurs limitant l'acquisition des potentialités embryogènes des tissus. Il est positivement relié à une accumulation importante des isomères de l'acide caféoylshikimique dans les tissus de l'explant mis en culture. Le charbon actif retarde le phénomène de brunissement mais conduit à une accumulation importante de flavan-3-ols, de proanthocyanidines et des isomères de l'acide caféoylshikimique

qui sont de bons substrats des polyphénol oxydases (Macheix *et al.*, 1990). A *contrario*, sur les milieux témoins et contenant du polyvinylpyrrolidone, le brunissement des tissus et des milieux prend place dès les premiers jours de culture. Ceci est accompagné par une accumulation importante de flavan-3-ols, de dérivés sinapiques, féruliques et p-coumariques alors que l'acide caféoylshikimique ne se trouve qu'en trace. Des relations positives sont établies entre le potentiel de brunissement, cultivar et milieu dépendant, et l'accumulation ou non de divers composés phénoliques. De même, il ressort que la récalcitrance de certains cultivars est en partie liée à leur richesse en composés phénoliques et à la présence de fortes activités des enzymes d'oxydation particulièrement les peroxydases qui, paradoxalement, constituent des marqueurs de l'état embryogène des tissus. Les cultures embryogènes présentent des activités peroxydasiques intra et extracellulaires largement supérieures à celles des cultures non embryogènes (El Hadrami et Baaziz, 1995). Ces mêmes cultures embryogènes se caractérisent également par un faible potentiel de brunissement associé à une faible teneur en phénols représentés essentiellement par des flavonoïdes de type isorhamnétine et lutéoline. Ces composés peuvent constituer des marqueurs potentiels de l'embryogenèse somatique et être directement impliqués dans la lutte contre le brunissement tissulaire.

*Faculté des Sciences-Semlalia, Laboratoire de Physiologie Végétale, B.P. S 15, 40000 Marrakech, MAROC

**Faculté des Sciences-Semlalia, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire des Plantes, B.P. S 15, 40000 Marrakech, MAROC

***INRA-Marrakech, Centre Régional du Haouz Présahara, Laboratoire de Physiologie Végétale, B.P. 533, Marrakech, MAROC

****Université de Montpellier II, Laboratoire de Biotechnologie et Physiologie Végétale Appliquées Montpellier, FRANCE

Evolution biométrique comparée de vitroplants de Palmier dattier sur trois sites à différentes latitudes

Ferry M.*, Toutain G.**

Les auteurs analysent les résultats de leurs notations biométriques sur 3 essais variétaux de vitroplants de palmier dattier à différentes latitudes.

Les variétés concernées sont 'Bou sthami noire' et 'Bou feggous' (Maroc), 'Zahidi' et 'Khadrawi' (Irak) et 'Thoory' (Californie), étudiées entre la troisième et la quatrième année après plantation. Bien que ces observations n'aient qu'une valeur indicative, des différences s'inscrivent selon les variétés et les sites, et montrent la capacité des vitroplants du Palmier dattier (issus de prolifération de bourgeons) à entrer rapidement en production dès la troisième année de plantation.

*Estación Phoenix, Cami del Gat s/n, 03203 Elche (Alicante), ESPAGNE

**Groupe de Recherche et d'Information pour le Développement de l'Agriculture d'Oasis (GRIDAO) CIRAD-SAR, 2477 Av. du Val de Montferrand, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, FRANCE

Multiplication du Palmier dattier par organogénèse : influence des régulateurs de croissance et relation avec les peroxydases extracellulaires

Jaiti F.**, Anjarne M.*, Baaziz M.**, El Hadrami I.**

L'effet de l'acide naphthalène acétique (ANA) et du Benzyl aminopurine (BAP) sur la multiplication, l'allongement, le brunissement et la vitrification des bourgeons a été étudié chez deux variétés du palmier dattier Boufeggous (BFG) et Bouskri. Parmi les seize combinaisons hormonales étudiées, certains milieux ont été retenus pour la multiplication des souches, d'autres pour l'allongement des bourgeons. L'excès de la BAP se traduit par l'intensification du brunissement et de la vitrification des souches qui se trouvent positivement reliés à l'activité des peroxydases extracellulaires. Au contraire, les milieux permettant une multiplication ou un allongement important des bourgeons se caractérisent par une faible activité enzymatique.

*INRA-Marrakech, Centre Régional du Haouz Présahara, Laboratoire de Physiologie Végétale, B.P. 533, Marrakech, MAROC

**Faculté des Sciences-Semlalia, Laboratoires de Physiologie Végétale et de Biochimie et Biologie Moléculaire des Plantes, B.P. S 15, Marrakech, MAROC

Quelques observations sur les potentialités embryogènes du Palmier dattier

Masmoudi R.*, Meziou B.*, Drira N.*

L'étude des potentialités embryogènes des explants végétatifs prélevés sur des rejets et de ceux issus de culture *in vitro* a révélé que ces derniers réagissent beaucoup plus rapidement tout en présentant une sensibilité accrue aux hormones de croissance si bien que l'induction de l'embryogénèse somatique peut avoir lieu en présence de doses faibles d'auxines sans que le 2,4-D soit pour autant indispensable.

Les embryons qui peuvent se former d'une façon directe ou à travers une callogenèse intense ou discrète sont capables d'entamer de nouveaux cycles de multiplication en donnant naissance à des embryons secondaires mêlés à l'initiation de bourgeons et ceci pendant plusieurs générations sur des milieux dépourvus d'hormones ce qui conduit à une descendance probablement homogène.

*Faculté des Sciences de Sfax, Laboratoire de Physiologie Végétale, 3038 Sfax, TUNISIE

Preliminary results on somatic embryogenesis of the adult Date palm (*Phoenix dactylifera* L.)

Navarro J.*, Ferry M.*

So far, the different research work that has been carried out on *in vitro* date palm propagation by somatic embryogenesis, has been done, nearly always, starting from juvenile vegetative material, mainly offshoots. But, in Elche, the research on *in vitro* propagation of selected date palms has to be done starting with adult material and material always genetically different, because the local tradition is to cut off the offshoots. This preliminary research work has been mainly centred on two types of tissue, young leaves of the heart of the date palm and spiculas of young inflorescences, a few experiments also being conducted with buds. Various concentrations of 2-4 D (5, 10, 50, 100 mg l⁻¹) have been tested, with 2iP maintained at 3 mg l⁻¹.

With the more internal leaves and with a concentration of 100 mg l⁻¹, embryogenic callus, embryos and plantlets have been obtained. With spiculas, production of roots has occurred with 100 mg l⁻¹ of 2-4 D. With the weakest concentrations of 2-4 D, callogenesis has been very active and root production more rare.

*Estación Phoenix, Cami del Gat s/n, 03203 Elche (Alicante), SPAIN

Date palm vitroplants in Israel

Reuveni O.*

94 Medjhouh vitroplants were planted in 1984-1985 in Israel in order to evaluate their conformity.

*The Volcani Centre, Institute of Horticulture, P.O. Box 6, 50250 Bet-Dagan, ISRAEL

Morphological study of the axillar productions of the adult Date palm tree - Potentiality for *in vitro* culture

Ruipérez H.*, Ferry M.*, Casas Martínez J.L.**

In a natural way the axillar buds of an adult palm tree are developed in inflorescence. Previous to its inflorescence stage, the axillar buds go through a long morphogenetic process, which is very little known, and is the purpose of this work.

The morphological and histological study of the axillar buds as well as its distribution/incidence through the chronological spiral in terms of the season allows us to describe different stages in the ontogenesis of the inflorescences. As a remarkable fact we have found that in early stages of its ontogenesis, the buds (the smallest ones are reduced to a minimally structured meristem) can remain in a latent phase for several years.

Since these buds appear in a considerable amount in the adult palm-tree (about 50), and provided that they are very likely to be undetermined buds, they represent a very interesting material, ignored so far for *in vitro* propagation.

*Estación Phoenix, Cami del Gat s/n, 03203 Elche (Alicante), SPAIN

**Universidad de Alicante, 03080 Alicante, SPAIN
