

Micropropagation par tissus
inflorescentiels du palmier dattier
(*Phoenix dactylifera L.*) : un outil efficace
pour La sauvegarde des genotypes rares.

Abahmane L.

Laboratoire de Biotechnologie Végétale

INRA, Centre Régional de la Recherche Agronomique de Marrakech

Résumé

La multiplication des géotypes de palmier dattier, rares ou sélectionnés, se heurte au problème de l'indisponibilité de rejets nécessaires à leur micropropagation végétative. Pour palier à ce problème, l'utilisation de tissus prélevés à partir d'inflorescences, au moment de leur émergence, a permis la réussite de la multiplication de certains géotypes sélectionnés et présumés résistants à la maladie du Bayoud. Pour une meilleure adaptation de cette nouvelle technique à une large gamme de géotypes, deux séries de combinaisons hormonales ont été testées en phase d'initiation de bourgeons. La première série contenant 0.5 mg^l⁻¹ d'acide naphthoxyacétique (ANOA), 0.5 mg^l⁻¹, acide naphthalénacétique (ANA) et (0, 0.1, 0.5 et 1) mg^l⁻¹ du 2-Isopentyl adénosine (IPA) a induit le développement de carpelles et la formation de racines. La seconde, contenant : 0.5 mg^l⁻¹ ANA, 1 mg^l⁻¹ BAP et (0, 0.5, 1 et 2) mg^l⁻¹ IPA a permis d'initier les bourgeons végétatifs chez deux géotypes sélectionnés INRA-B26 et INRA-B27 respectivement sur les milieux contenant 1 et 2 mg^l⁻¹ d'IPA. L'étude de la multiplication de ces bourgeons a été réalisée avec le milieu de base renfermant (mg^l⁻¹): les régulateurs de croissance ANA (0.5), IPA (1) et BAP (1) ou dilué au 1/2.5; 1/5 et 1/10. La multiplication a été satisfaisante sur le milieu dilué au 1/2.5. Des centaines de plantules ont été régénérées et acclimatées. Les premiers vitro-plants produits ont été transférés au sol aux domaines expérimentaux de l'INRA à Marrakech et à Zagora. Certains vitro-plants du géotype INRA-B26 ont commencé à produire des dattes.

Mots clés : Palmier dattier, micropropagation, tissus inflorescentiels, géotypes sélectionnés

ملخص

يصطدم إكثار سلالات النخيل المختارة و الأصناف النادرة بمشكل انعدام الفسائل الضرورية لإكثارها الخضري. ولتجاوز هذه الإشكالية، تم استعمال الأنسجة المستخلصة من الاغريض عند بداية ظهوره بنجاح للإكثار الدقيق عند بعض السلالات المختارة و المقاومة لمرض البيوض. ومن أجل ملاءمة هذه التقنية الجديدة لأكبر عدد من السلالات، تمت دراسة تأثير تركيبتين هرمونيتين في مرحلة إنبات البراعم الخضرية. وتحتوي التركيبة الأولى على (ملغرام في اللتر): 0,5 من حامض نافطوكسي اسيتيك و 0,5 من حامض نافطلين اسيتيك و (0, 0,1, 0,5 و 1) من ايزوبانتيل ادينوزين و التي ادت الى نمو الكربلات و ظهور الجذور بكثرة على الانسجة المزروعة. اما التركيبة الثانية، فقد احتوت على (ملغرام في اللتر): 0,5 من حامض نافطلين اسيتيك و 1 من بنزيل امنوبيورين و (0, 0,5, 1 و 2 من ايزوبانتيل ادينوزين، و قد أدت إلى إنبات البراعم الخضرية عند سلالتين مختارتين هما INRA-B26 و INRA-B27 في الوسطين المحتويين على التوالي على 1 و 2 ملغرام في اللتر من ايزوبانتيل ادينوزين. كما تمت دراسة على إكثار هذه البراعم على مجموعة من الأوساط الغذائية تحتوي على (ملغرام في اللتر): 0,5 من حامض نافطلين اسيتيك و 1 من ايزوبانتيل ادينوزين و 1 من بنزيل امنوبيورين او مخفض إلى 2,5/1 أو 15 أو 1/10. وقد تم الحصول على أفضل تكاثر للبراعم على الوسط المحتوي على التخفيض 2,5/1 كما تم إنتاج المئات من الشتلات انطلاقا من هذه السلالات. وزرعت في الحقل بكل من ميداني التجارب بمراكش و زاكورة، عينات من الشتلات النسيجية المنتجة لدراسة سلوكها بالحقل. وقد لوحظ أول إزهار لهذه الشتلات خلال هذا العام 2005 و ذلك عند سلالة INRA-B26.

الكلمات المفتاحية : نخيل البلح - الإكثار الدقيق - الأنسجة الزهرية - السلالات المختارة

Abstract

Micropropagation of rare or selected date palm genotypes is hampered by the lack of offshoots needed for their vegetative propagation. To overcome this problem, the use of tissues excised from inflorescences, at their emergence, has permitted to succeed the micropropagation of some selected genotypes presumed to be resistant to Bayoud disease. In order to adapt this new technique to other genotypes, two hormonal combinations were tested on bud initiation. The first one containing 0.5 mg l⁻¹ d'acide naphtoxyacétique (NOAA), 0.5 mg l⁻¹ NAA and (0, 0.1, 0.5 and 1) mg l⁻¹ 2-Isopentyl adenosine (2-iP) enhanced carpel development and root formation. The second containing 0.5 mg l⁻¹ naphtalenacétique acide (NAA), 1 mg l⁻¹ benzylaminopurine (BAP) and (0, 0.5, 1 and 2) mg l⁻¹ of isopentyl adenosine (2-iP) has permitted bud initiation in genotypes INRA-B26 and INRA-B27 respectively on culture media containing 1 and 2 mg l⁻¹ of 2-iP. Bud multiplication was tested on culture media containing (mg l⁻¹): NAA (0.5), 2-iP (1) and BA (1) or diluted at 1/2.5; 1/5 and 1/10. Satisfactory rate of multiplication was achieved on medium diluted at 1/2.5. Hundreds of complete plantlets were produced and acclimatized. The first produced vitro-plants were transferred to soil at INRA experimental stations in Zagora and Marrakech. The first plants from (INRA-B26) have started to produce dates.

Key words : Date palm, micropropagation, inflorescence tissues, selected cultivars

Introduction

Le palmier dattier constitue l'ossature de l'agriculture oasisienne par son rôle écologique de protection des cultures sous-jacentes contre les influences du climat désertique. Le développement de la culture du palmier dattier connaît actuellement de sérieuses menaces liées principalement à la maladie du Bayoud qui a décimée, depuis son apparition en 1887 dans la vallée de Draâ, plus des 2/3 des palmeraies marocaines. Les moyens de lutte chimique et culturale contre cette maladie ainsi que les mesures prophylactiques se sont révélés coûteux, non pratiques et peu efficaces pour contrôler son expansion. Pour faire face à cette situation, l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), a entrepris un vaste programme de sélection, au sein des palmeraies infestées par le Bayoud, afin de préserver les génotypes qui présentent des potentialités de résistance à cette maladie. Ce programme a permis la sélection de dizaines d'individus présumés résistants et de bonne qualité dattière. Cependant, l'exploitation de ces obtentions se heurte au problème de l'indisponibilité de rejets suffisants à leur multiplication végétative. Le développement d'un procédé permettant la multiplication de ces clones permettrait de valoriser les énormes efforts déployés par l'INRA en matière de sélection de ces génotypes. Devant cette situation, le recours à l'utilisation des tissus inflorescentiels reste le seul moyen pour leur multiplication. Dans ce cadre, des résultats encourageants ont été rapportés par Drira (1985) chez la variété Allig, par Loutfi (1989) chez certaines variétés marocaines, par Bhaskaran et Smith (1992) chez la variété Barhi et par Abahmane (1998, 2003 et 2005) chez certains génotypes sélectionnés. L'objectif de ce travail est de mieux adapter cette technique à une large gamme de génotypes de palmier dattier. Pour cela, l'effet de quelques combinaisons en régulateurs de croissance a été testé sur la phase d'initiation et de multiplication des bourgeons végétatifs.

MATERIEL & METHODES

Le matériel végétal est constitué d'inflorescences issues de quatre génotypes sélectionnés et qui ne disposent pas de rejets, à savoir : INRA-K4, INRA-A18, INRA-B26 et INRA-B27. Les spathe sont prélevées à leur émergence pendant la période de floraison entre février et avril. Pour la phase de multiplication, les bourgeons utilisés sont prélevés à partir des génotypes INRA-B26, INRA-B27 et un autre génotype initié auparavant INRA-954.

1. Milieu de culture :

Le milieu de base utilisé est constitué des macro-éléments de Gamborg et Eveleigh (1968) modifiés par Gresshoff et Doy (1972), des micro-éléments de Gamborg et Eveleigh (1968), de la solution ferrique de Murashige et Skoog (1962), du myo-Inositol (100 mg/l), l'adénine (25 mg/l), la tyrosine (250 mg/l), la glycine (2mg/l), le saccharose (40 g/l), l'agar (8g/l) et du Polyvinylpyrrolidone (2 g/ l).

Pour l'étude de l'effet de régulateur de croissance sur la phase d'initiation deux séries de combinaisons hormonales ont été testées

- **Série 1(en mg/l)** : ANOA (0.5), ANA (0.5) et IPA (0, 0.1, 0.5 et 1).
- **Série 2(en mg/l)** : ANA (0.5), BAP (1) et IPA (0, 0.5, 1 et 2).

Le milieu de multiplication mg/l de même composition de base que le milieu d'initiation contient(en mg/l):

- ANA (0.5), IPA (1) et BAP (1) ou dilué au 1/2.5; 1/5 et 1/10.

Le pH des différents milieux est ajusté à 5.8 à l'aide du NaOH (0.1N), et HCl (0.1N) les milieux de culture sont distribués dans des tubes à essai (25 x 150 mm) à raison de 15 ml par tube puis autoclavé à 121°C pendant 20 minutes.

2 . Préparation du matériel végétal:

Au moment de la mise en culture

- Les spathes sont d'abord lavées à l'eau courante puis trempées pendant 10 minutes dans une solution contenant 3g/l de Mancozan (matière active mancozèbe). (Figure.1).
- Les pédicelles récupérés sont désinfectés pendant 20 minutes, dans l'hypochlorite de sodium commercial dilué de moitié
- Les pédicelles sont finalement rincés à l'eau distillée stérile puis découpés en petits fragments et ensemencés sur les milieux d'initiation (Figure 1).
- Les explants sont mis dans une solution anti-oxydante contenant 100 mg d'acide ascorbique et 150 mg d'acide citrique afin d'atténuer le problème de brunissement du aux phénols.

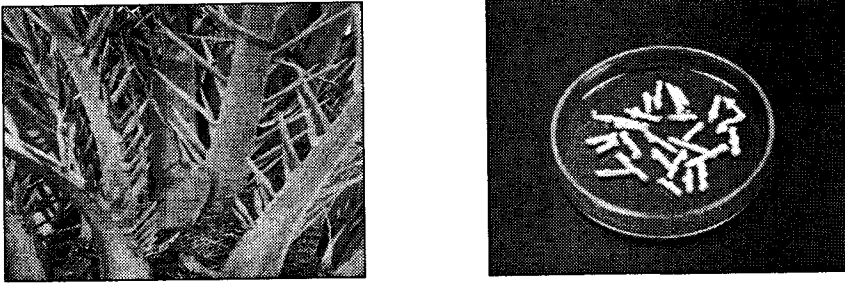


Figure 1: Inflorescence enssemencée (à droite) prélevée de spathe âgée (à gauche)

3. Conditions d'incubation

Les cultures sont incubées à l'obscurité pendant 8 mois sous une température de $26 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant le jour et de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant la nuit. Les repiquages sur des milieux frais sont effectués toutes les quatre semaines.

4. Analyses statistiques

Le dispositif expérimental adopté est un dispositif en blocs aléatoires complets avec 3 répétitions. Pour chaque traitement, 90 tubes, répartis en trois lots (3 répétitions) ont été utilisés au début de l'essai. Les analyses statistiques sont effectuées à l'aide du logiciel statistique "SYSTAT". Pour la comparaison des moyennes, le test de Newman et Keuls (Dagnelie 1980) a été utilisé au seuil 5%.

RESULTATS ET DISCUSSION

A- PHASE IN VITRO

1. croissance et développement des explants

Après un mois de mise en culture, en fonction de la composition hormonale du milieu de culture, diverses réactions ont été observées. Sur la première série de milieu, nous avons

noté l'allongement des explants avec l'épaississement des pédicelles. De même un développement spectaculaire de carpelles a été observé surtout chez les génotypes INRA-K4 et INRA-A18.

L'analyse statistique des données relatives à ce dernier type de comportement a mis en évidence un effet significatif ($P \leq 0.05$) du milieu de culture sur la croissance des carpelles. Les mêmes constatations ont été rapportées par Bakry et al. (1985) chez le bananier multiplié à partir des tissus floraux.

Outre la croissance des explants, la multiplication des pièces florales a constitué la réaction dominante sur les milieux de culture d'initiation de la deuxième série surtout les plus riches en cytokinines (1 et 2 mg/l d'IPA). En effet, une multitude de petites pièces prennent naissance à partir des boutons floraux des explants de départ et cela semble être favorisé par les cytokinines, utilisées (BAP et IPA), qui sont connues par leur stimulation des divisions cellulaires (George et Sherrington, 1984). L'analyse statistique des résultats a révélé des différences significatives ($P \leq 0.01$) entre les quatre milieux de culture testés. Des résultats similaires ont été rapportés par Drira et Benbadis (1985) qui ont noté une prolifération de pièces florales très courtes sur des explants prélevés d'inflorescences immatures de palmier dattier et ensemencés sur un milieu équilibré contenant 1 mg/l de BAP et 1 mg/l d'AIB. Le même résultat a été également observé par Loutfi (1989) chez un matériel végétal prélevé à partir d'inflorescences plus âgées et cultivé sur des milieux renfermant des rapports Auxines/Cytokinines inférieurs à 1.

Le développement des racines sur les explants ensemencés a été également très fréquent chez les tissus inflorescentiels. En effet, malgré que le milieu sans IPA a montré le plus haut pourcentage d'apparition des racines, aucune différence significative n'a été observée entre les différents milieux de culture testés.

Ce comportement est fréquemment chez le palmier dattier. Par ailleurs, Drira (1985) a rapporté que la formation des racines a lieu chez tous les stades des tissus inflorescentiels cultivés *in vitro* et plus particulièrement sur des milieux riches en ANA pour des concentrations comprises entre 0.5 et 3 mg/l. En outre, le développement des racines sur les tissus inflorescentiels est probablement lié, d'une part à l'équilibre hormonal, d'autre part au stade physiologique avancé des tissus au moment de la mise en culture (Abahmane, 1998 et 2003).

2. Initiation de bourgeons végétatifs

a/ Obtention de bourgeons

Sur l'ensemble des milieux de culture testés, les deux génotypes, à savoir INRA-B26 et INRA-B27, ont développé des bourgeons végétatifs respectivement sur les milieux de culture de la deuxième série renfermant 1 et 2 mg/l d'IPA. Sur ces milieux, la régénération des

bourgeons végétatifs a eu lieu directement sur les tissus des pièces florales des explants ensemencés. Une fois initiés, ces bourgeons ont été transférés en lumière sur les différents milieux de multiplication. Chez certains génotypes de palmier dattier, l'initiation de bourgeons végétatifs est consécutive à une multiplication des pièces florales notamment les pétales. En littérature, des résultats signalant l'obtention de bourgeons végétatifs à partir d'explants inflorescentiels ayant réagis par une multiplication des pièces florales ont été rapportés par Loutfi (1989).

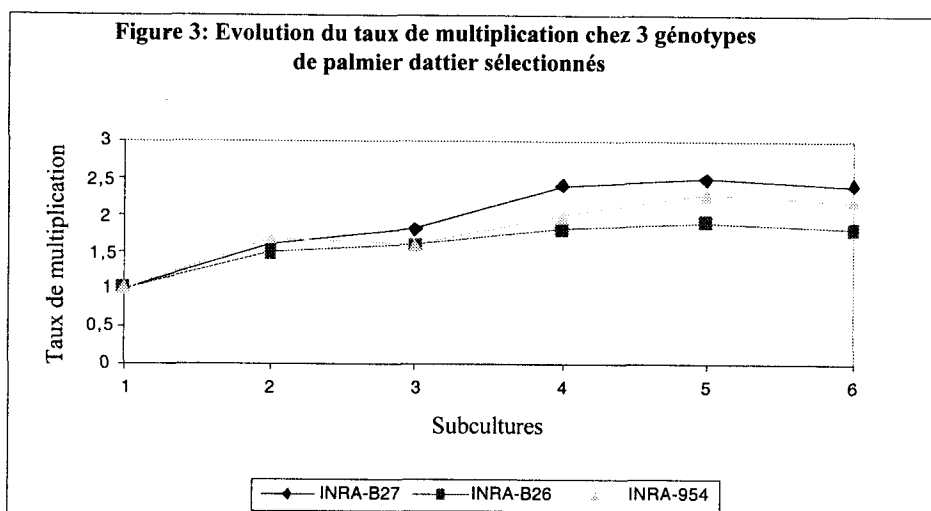


Figure 2 : Bourgeons végétatifs initiés à partir des tissus inflorescentiels

b/ Multiplication des bourgeons

La multiplication des bourgeons obtenus à partir des génotypes INRA-B26, INRA-B27 et un autre génotype initié auparavant (INRA-954) est réalisée en lumière sur les différents milieux de multiplication testés. Au début de la phase de multiplication, les bourgeons ont eu tendance à produire des feuilles très épaisses avec un taux de multiplication relativement faible. Des résultats similaires ont été rapportés par Bakry et al. (1985) chez le bananier multiplié à partir des tissus inflorescentiels. Sur les milieux étudiés, différents comportements ont été observés et les différences entre les traitements sont significatives ($P \leq 0.05$). Ainsi, sur les milieux dilués au 1/2.5 et 1/5, la multiplication des bourgeons ainsi que leur aspect étaient satisfaisants. Cependant, la dilution au 1/2.5 s'est distinguée par une multiplication plus prolongée dans le temps comparée à celle au 1/5 qui induisait un allongement des bourgeons après quelques cycles de repiquage. Sur le milieu entier, les bourgeons en multiplication ont montré un problème de vitrification. Par contre, la dilution au 1/10 a entraîné à la fois l'allongement des bourgeons et un développement précoce de racines.

La multiplication des différents génotypes INRA-26, INRA-B27 et INRA-954 sur le milieu dilué au 1/2.5 a montrée une légère différence génotypique. (Figure 3).



c/ Production de plantules complètes

A la fin de la phase de multiplication, les bourgeons commencent à s'allonger et à développer des racines. Les feuilles sont laissées intactes et les pousses feuillées sont séparées en petits lots de bourgeons qui ont donné plus tard plusieurs plantules. Au fur et à mesure de leurs individualisations, les bourgeons en allongement sont séparés et repiqués à part. Sur les milieux d'élongation et en présence de l'ANA seul à 0.2 mg/l, on assiste généralement à une formation de racines parallèlement à l'allongement des bourgeons. A terme de cette phase, des plantules avec 2 à 3 feuilles et plusieurs racines sont obtenues. Elles sont alors acclimatées puis transférées en serre. Selon les génotypes, la qualité des plantules produites est variable, d'ailleurs, on a noté que le clone INRA-B27 produit des plantules d'une excellente qualité dont le taux de reprise en acclimatation avoisine 80 %.

d/ Acclimatation des plantules

Les plantules produites sont acclimatées en serre, Le substrat de culture utilisé est formé de la tourbe noire et de gravier fin (v/v) en vue d'assurer un bon drainage et une rétention en eau convenable. La température à l'intérieur de la serre est maintenue entre 20 et 30 °C à l'aide de pompes à chaleur. De même une hygrométrie de l'ordre de 90 % est maintenue autour des plantules nouvellement transférées en serre moyennant un Fog système et l'usage de micro-tunnels plastiques. En outre, des traitements réguliers à base de Pelt 44 (matière active: Méthyle thiophanate) sont apportés afin d'éviter les problèmes de pourritures du collet. Sous ces conditions, les plantules ayant 2 à 3 feuilles, un collet bien développé et un bon système racinaire, ont eu un taux de reprise dépassant les 80 %. Pour une meilleure adaptation aux conditions du champ, les vitro-plants ont été placés pour une dernière phase de durcissement sous abri ombragé. Jusqu'à

présent, des centaines de plantules bien acclimatées, produites à partir des clones INRA-B27, INRA-B26 et INRA-954, sont disponibles en serre et sous abri ombragé (figure 4).



Figure 4: Vitro-plants de palmier dattier, produits à partir des inflorescences, en serre d'acclimatation (lot à droite de la photo)

B- PHASE IN-VIVO

1. Test de confirmation de la résistance au Bayoud

La multiplication des clones présumés résistants à la maladie du Bayoud a parmi ses objectifs la production de plants nécessaires aux tests de confirmation à la résistance chez ces génotypes. Dans ce cadre, 40 vitro plants, au stade 4 à 5 feuilles et appartenant aux clones INRA-B27 et INRA-B26 ont été mis à la disposition du Laboratoire de Phytopathologie pour effectuer ces études. Les tests de confirmation de la résistance sont effectués sous serre par inoculation artificielle des vitro-plants par le *Fusarium oxysporum* fsp *albedinis* (Foa), agent causal de la maladie du Bayoud et ce, en présence de témoins sensibles et résistants à cette maladie. Les résultats de ces tests seront présentés ultérieurement.

2. Plantation au champ

Un échantillon constitué des premiers vitro-plants produits à partir des clones INRA-B26 et INRA-B27 a été planté dans la réserve génétique du domaine expérimental Ménara à Marrakech au mois de Mars 2001. Un autre échantillon composé de 30 vitro-plants et appartenant aux mêmes clones a été planté au domaine expérimental de Zagora en 2003 (figure 5). La plantation de ces vitro-plants avait pour objectifs:

- Etudier le comportement agronomique de ces vitro-plants dans les deux sites : Marrakech et Zagora.

- Vérifier la conformité génétique de ces clones vis à vis des pieds mère installés au domaine expérimental de Zagora.
- Etudier leurs comportements vis à vis du Foa en plein champ dans le domaine expérimental de Zagora connu par son degré d'infestation élevé.



Figure 5 : Vitro-plants plantés au domaine expérimental de Zagora en 2003

2. Fructification des vitro-plants

Les vitro-plants installés au domaine expérimental de la Ménara à Marrakech ont fleuris pour la première fois cette année. Il s'agit des premiers vitro-plants du clone INRA-B26, produits à partir des inflorescences (figure 6 et 7). Cette fructification permettrait de donner les premières indications quant à la conformité génétique et par conséquent statuer sur l'opportunité de l'utilisation de ce procédé de multiplication pour la micropropagation à grande échelle du palmier dattier.

Signalons que c'est pour la première fois que cette technique a été utilisée pour la production de vitro-plants à partir de plusieurs génotypes, que des échantillons de ces vitro-plants ont été plantés en plein champ et ont commencé à produire des dattes.

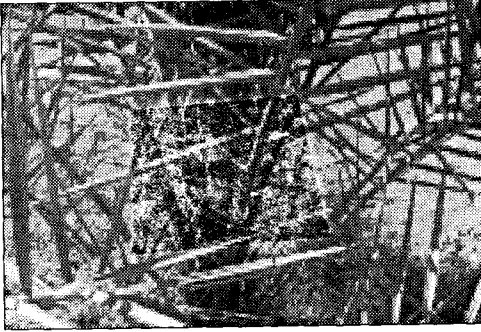


Figure 6: Régimes du clone INRA-B26 au stade nouaison des fruits



Figure 7: Régimes du clone INRA-B26 au stade grossissement des fruits

CONCLUSION

Le développement d'un procédé de multiplication *in vitro* pour les génotypes rares ou sélectionnés qui ne disposent plus de rejets constitue actuellement une nécessité pour valoriser le programme de sélection de cultivars résistants à la maladie du bayoud. Les récentes études sur l'utilisation des inflorescences pour la multiplication de ces individus ont donné des résultats encourageants. Cependant, le prélèvement de ce matériel végétal à partir des pieds sélectionnés et représentés dans la nature par un seul pied exige que l'opération soit sans conséquences néfastes sur l'arbre à multiplier. Pour répondre à cette exigence, nous sommes contraints de prélever des inflorescences à un stade de développement relativement tardif, après leur émergence entre les palmes .

Au cours de cette étude, deux génotypes sélectionnés et présumés résistants à la maladie du bayoud ont été multipliés, pour la première fois, à partir du matériel florale à savoir : INRA-B26 et INRA-B27. L'initiation des bourgeons a été obtenue respectivement sur les milieux contenant en mg/l: ANA (0.5), BAP (1) et IPA (1) et (2). La multiplication de ces bourgeons a été satisfaisante sur le milieu de culture contenant en mg/l: ANA (0.2), IPA (0.4) et BAP (0.4). Des plantules complètes ont été produites et acclimatées à partir de ces génotypes pour la première fois. Actuellement, des centaines de vitro-plants bien acclimatées sont disponibles sous serre et sous abri ombragé. Les premiers vitro-plants produits, à partir des génotypes multipliés, ont été utilisés pour les tests de confirmation de la résistance au Bayoud et plus d'une trentaine, ont été plantés aux domaines expérimentaux de la Ménara à Marrakech et de Nebch à Zagora. Les premiers vitro-plants plantés à Marrakech ont commencé à fleurir cette année ce qui permettra d'évaluer la conformité génétique de ces génotypes et par conséquent se prononcer sur l'opportunité de l'utilisation de cette technique pour la multiplication à grande échelle du palmier dattier.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abahmane L., 2005, Les tissus inflorescentiels: Une nouvelle source de matériel végétal pour la micropropagation des clones sélectionnés de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Proceedings du Symposium International sur le « Développement Agricole Durable des Systèmes Oasiens », Erfoud 07-10 Mars 2005, Maroc.
- Abahmane L., 2003, Multiplication du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) à partir des tissus floraux. Proceedings de la Conférence Internationale sur le palmier dattier ; Al Qassim, 16-19 Septembre 2003, Faculté d'Agriculture et de la Médecine Vétérinaire (Université Roi Saoud) Arabie Saoudite.
- Abahmane, L., 1998, Utilisation des tissus inflorescentiels comme explants pour la micropropagation du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Proceeding de la conférence sur le palmier dattier; organisé par le "Réseau de Recherche et Développement du Palmier dattier" Marrakech, 16-18 février 1998, Maroc, pp: 256-260.
- Bakry, F. Lavard-Guignard, F., Rossignol, L. et Demarly, Y., 1985: Développement de pousses végétatives à partir de la culture in vitro d'explants inflorescentiels de bananiers *Musa* sp. *Fruits* vol. 40, N° 7-8 pp: 459-465.
- Bhaskaran, S. et Smith, R.H., 1992: Somatic embryogenesis from shoot tip and immature inflorescences of *Phoenix dactylifera* L. cv. Barhee. *Plant Cell Reports* 12, pp: 22-25.
- Dagnelie, P., 1980 Théorie et méthodes statistiques. II. Application agronomique. Gembloux, Belgique : Les presses agronomiques de Gembloux, p 463.
- Drira, N., 1985: Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par les néoformations induites en culture in vitro sur des organes végétatifs et floraux prélevés sur la phase adulte. Thèse de doctorat d'Etat Es-Sciences Naturelles Fac. Sc. Tunis 121p.
- Drira, N., et Benbadis, A., 1985: Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) par réversion, en culture in vitro, d'ébauches florales de pieds femelles. *J. Plant Physiol.* Vol. 119 pp: 223-235.
- Gamburg, O.L. et Eveleigh D., 1968: Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 46 pp: 417-421.
- Gresshoff, P.M. et Doy, C.H., 1972: Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum*. *Planta* 107, pp: 161-170.
- Loutfi, K., 1989: Multiplication végétative du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) à partir de la culture in vitro d'explants inflorescentiels. Thèse Doct. 3^è cycle Univ. Cadi Ayyad Marrakech - Maroc 105p.
- Murashige, T. et Skoog, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15 pp: 473-497.